

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkai

## **Das CREB1-Gen in der Schizophrenie**



Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Manuel Alejandro Ortega Castillo

aus  
Saltillo

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatterin: PD Dr. Rebecca Schennach

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 05.12.2019

Meinen Familien gewidmet.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Die Schizophrenie .....	1
1.1.1 Definition .....	1
1.1.2 Historische Aspekte .....	1
1.1.3 Epidemiologie .....	2
1.1.4 Risikofaktoren .....	3
1.1.5 Symptomatik .....	4
1.1.6 Verlauf und Prognose .....	7
1.1.7 Ätiologie .....	9
1.2 Genetik der Schizophrenie .....	10
1.2.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien .....	11
1.2.2 Molekulargenetik .....	12
1.3 Neuropsychologie der Schizophrenie .....	22
1.3.1 Kognitive Beeinträchtigung bei der Schizophrenie .....	22
1.3.2 Gedächtnis und Schizophrenie .....	23
1.3.3 Neuroplastizität und Schizophrenie .....	24
1.4 cAMP response element binding protein (CREB1) .....	28
1.4.1 CREB1 Familie von Transkriptionsfaktoren .....	30
1.4.2 CREB1 Funktion .....	31
1.4.3 CREB1 in der Entwicklung des Nervensystems .....	31
1.4.4 CREB1, Proliferation und Neuronale Differentiation .....	33
1.4.5 CREB1, Lernen, Gedächtnis und Plastizität .....	33
1.4.6 CREB1 und Neuroprotektion .....	34
1.4.7 CREB1 und psychiatrische Krankheiten .....	35
1.4.8 CREB1 und Schizophrenie .....	37
<b>2 Fragestellung .....</b>	<b>39</b>
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>40</b>
3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung .....	40
3.2 Studiendesign .....	40
3.3 Kontrollprobanden .....	41
3.3.1 Auswahlverfahren für das Kontrollkollektiv .....	41
3.3.2 Ein-/Ausschlusskriterien der Kontrollprobanden .....	42
3.4 Patienten .....	42
3.4.1 Auswahlverfahren für das Patientenkollektiv .....	42
3.4.2 Ein-/Ausschlußkriterien des Patientenkollektivs .....	44

3.5	Laborverfahren.....	44
3.5.1	DNA-Extraktion.....	44
3.5.2	Bestimmung der DNA-Konzentration .....	47
3.6	Genotypisierung.....	48
3.7	Statistische Auswertung.....	52
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>53</b>
4.1	Analyse des Markers rs2709376 des CREB1 Gens .....	53
4.1.1	Allelverteilung .....	53
4.1.2	Genotypverteilungen .....	53
4.2	Analyse des Markers rs2253206 des CREB1 Gens .....	55
4.2.1	Allelverteilung .....	55
4.2.2	Genotypverteilungen .....	56
4.3	Analyse des Markers rs2551640 des CREB1 Gens .....	58
4.3.1	Allelverteilung .....	58
4.3.2	Genotypverteilungen .....	58
4.4	Analyse des Markers rs2709356 des CREB1 Gens .....	60
4.4.1	Allelverteilung .....	60
4.4.2	Genotypverteilungen .....	61
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>63</b>
5.1	Diskussion der Methodik.....	64
5.2	Diskussion funktioneller Auswirkungen.....	70
5.2.1	Studien zur Entwicklung des ZNS, Neuroplastizität, Neuroregeneration und CREB1 .....	71
5.2.2	Studien zum Lernen, Gedächtnis und CREB1 .....	74
5.2.3	Studien zur Neuroprotektion und CREB1 .....	75
5.3	Ausblick.....	77
	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>80</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>83</b>
	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>84</b>
	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>86</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>126</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>127</b>

## Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine zumeist chronisch verlaufende psychische Erkrankung, die sich durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken, Wahrnehmung sowie inadäquate oder verflachte Affekte kennzeichnet, und mit erheblichen Einschränkungen der Lebensqualität, der Erlebnisfähigkeit sowie einer reduzierten Leistungsfähigkeit Betroffener einhergeht. Die weltweite Prävalenz der Erkrankung liegt bei annähernd 1 %. Aktuell ist die genaue Ätiologie noch unklar, Umweltfaktoren und genetische Faktoren stellen einen gesicherten Anteil der Pathogenese dar. Es wird mit einer Heritabilität der Schizophrenie von 80 % gerechnet.

Relevante genetische Faktoren, wie die Anzahl der Suszeptibilitätsgene, das von jedem Locus verliehene Erkrankungsrisiko, das Ausmaß der genetischen Heterogenität und der Grad der Interaktion zwischen den Loci untereinander, sind aktuell nicht vollständig bekannt. Dennoch sind zahlreiche Gene, die unabhängig voneinander nur geringfügig zur Entstehung und Ausprägung der Erkrankung beitragen, durch Assoziationsstudien (GWAS) und Kopplungsanalysen bereits identifiziert worden.

Das CREB1-Gen liegt im Bereich eines Genabschnitts auf Chromosom 2, der eine genomweite signifikante Kopplung, in einer groß angelegten Metaanalyse, zeigen konnte. Aus diesem Grund kann das CREB1-Gen als positionelles Kandidatengen in der Pathogenese der Schizophrenie betrachtet werden. Darüber hinaus interessiert das CREB1-Gen in der Schizophrenieforschung, da es die Neuroplastizität, Neurotransmission und die Hirnentwicklung beeinflusst, sowie an entscheidenden Prozessen wie dem Lernen und der Gedächtnisentstehung beteiligt ist. Da Anomalien in der Hirnentwicklung, den Neurotransmittersystemen, den Lern- und Gedächtnisprozessen als potentielle Pathomechanismen der Schizophrenie bekannt sind, erscheint eine Beteiligung des CREB1-Gens wahrscheinlich. Vorbefunde, die auf eine Assoziation von CREB1 Polymorphismen mit Schizophrenie hinweisen, bestätigten die Hypothese bereits.

Der Frage, inwiefern Varianten in CREB1 mit der Schizophrenie assoziiert sind, wurde in der vorliegenden Studie an 1308 Kontrollen und 510 an Schizophrenie erkrankten Patienten nachgegangen. Die Diagnose erfolgte nach den DSM-IV-Kriterien, die Genotypisierung der Einzelnukleotidpolymorphismen rs2709376, rs2253206, rs2551640 und rs2709356 innerhalb des CREB1-Gens erfolgte mittels iPLEX. Der

Vergleich der Genotyp und Allelverteilung zwischen den Gruppen ergab ein statistisch signifikant häufigeres Auftreten des A-Allels von rs2253206 in der Patientengruppe.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bekräftigen die bestehenden Vorbefunde und damit die Hypothese einer potentiellen Rolle des CREB1-Genes in der Ätiopathogenese der Schizophrenie und sollten in nachfolgenden Studien weiter untersucht werden.

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Schizophrenie

### 1.1.1 Definition

Die Schizophrenie ist eine, den endogenen Psychosen zugeordnete, psychische Erkrankung. Charakteristika der Erkrankung sind Denk-, Wahrnehmungs-, Affekt- und Antriebsstörungen, Ich-Störungen sowie psychosoziale Defizite ohne Vorliegen einer intellektuellen Beeinträchtigung. Es ist von einer multifaktoriellen Genese der Erkrankung auszugehen bei der genetische Faktoren eine wichtige Rolle in der Ätiopathogenese zugeschrieben wird.

### 1.1.2 Historische Aspekte

1896 fasste Emil Kraepelin eine Gruppe von zu diesem Zeitpunkt noch als voneinander unabhängig geltenden psychischen Störungen, zu einer nosologischen Einheit zusammen. Kraepelin teilte die endogenen Psychosen, zu denen die Schizophrenie gehört, in zwei Gruppen auf:

Den Zyklotymien stellte er die sogenannten „*Dementia praecox*“ gegenüber. Kraepelin nahm an, dass die schizophrenen Psychosen zu einer frühzeitigen (*praecox*) Demenz führen. Diese Demenz beschrieb er mit einem massiven Abbau der Intelligenz und dem Verlust des Verstandes. Zudem wollte Kraepelin darauf aufmerksam machen, dass diese Krankheit im Gegensatz zur manisch-depressiven einen ungünstigen Krankheitsverlauf nimmt (Kraepelin, 1896).

Bereits in seiner ersten Beschreibung der *Dementia praecox im Jahr 1896* stellte Emil Kraepelin die Einteilung der Schizophrenie in klinische Subtypen dar. Diese erfolgte, abhängig von der vorherrschenden Symptomatik und Verlauf, in paranoid-halluzinatorisch, hebephren und kataton (Diefendorf, 1902; Kraepelin, 1896).

Im Jahre 1911 stellte Eugen Bleuler für diese psychische Erkrankung eine neue Sichtweise vor. Er gab der damaligen *Dementia Praecox* den Namen „Schizophrenie“, da er von einem „Spaltungsirresein“ ausging (*schizo* = ich spalte, *phren* = Geist). Die Beschreibung von Bleuler nimmt stärkeren Bezug auf das psychopathologische Querschnittsbild, dabei wird in der Einteilung zwischen Grundsymptomen



und akzessorische Symptome unterschieden (Bleuler, 1911). Bleuler betrachtete Assoziationsstörungen und Störungen des Affekts, Autismus und Ambivalenz als Grundsymptomen, Halluzinationen, Wahn und Katatonie ordnete er den akzessorischen Störungen zu (Möller and Deister, 2000).

Die Einordnung nach Kurt Schneiders unterteilt Symptome in Symptome ersten und zweiten Ranges. Diese Lehre beruht auf der verschiedenen diagnostischen Valenz einzelner Symptome aus den pathologischen Erlebniskategorien Halluzinationen, Ich-Störungen aus den schizophrenen Kreis und Wahn (Schneider, 1957).

Schneider betrachtete die primären Störungen als eine direkte Folge eines zerebralen Prozesses (lockere Assoziationen, Bewusstseinstörungen und Schwankungen der Stimmungslage). Die sekundären Störungen (Wahn, Ambivalenz, Autismus, Negativismus) wertete er als Ergebnis eines Anpassungsversuchs an die primäre Störungen (Hoff, 2012).

Eine Unterscheidung von Positiv- und Negativsymptomatik erfolgt seit den 70er Jahren. Wahn, formale Denkstörungen, Halluzinationen sowie desorganisiertes Verhalten werden dabei den positiven Symptomen zugeordnet. Die Verarmung des Affektes, Rückzug im Sozialbereich, Alogie und Störungen der Aufmerksamkeit zählen hingegen zu den negativen Symptomen (Andreasen and Olsen, 1982).

### **1.1.3 Epidemiologie**

Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie wird für die Gesamtbevölkerung mit etwa 0,7% angenommen (Saha et al., 2005; McGrath et al., 2008). Die durchschnittliche jährliche Neuerkrankungsrate liegt bei 15,2 von 100000 (Brown, 2011, McGrath et al., 2008, Saha et al., 2008). Die Punktprävalenz beträgt im Mittelwert 0,46% (Brown, 2011, Saha et al., 2005).

Die Schizophrenie manifestiert sich vorwiegend in der Jugend oder dem frühen Erwachsenenalter. Die Prävalenz der Schizophrenie ist in beiden Geschlechtern ähnlich (Saha et al., 2005). Im Gegensatz dazu, werden bezüglich der Inzidenz signifikante Unterschiede beobachtet. Im Bezug auf der Inzidenz der Schizophrenie fanden McGrath und Kollegen in systematischen Reviews diesbezüglich, dass Männer 1,4-mal häufiger neu erkranken (McGrath et al., 2004, McGrath et al., 2006, McGrath et al., 2008).

Über 50% aller Schizophrenien brechen vor dem 30. Lebensjahr aus (Möller et al., 2005). Bei weiblichen Erkrankten wurde eine Zunahme der Erkrankungswahrscheinlichkeit nach der Menopause beobachtet (Tandon et al., 2008).

In Industrienationen und in den sozial benachteiligten Schichten wurde eine höhere Prävalenz, bei gleicher Inzidenz, gefunden. Die *Sozial-Drift-Theorie* besagt, dass schizophrene Personen häufig eine soziale Benachteiligung erleben und den Rückzug in die Anonymität der Stadt suchen, dies dient als eine potentielle Erklärung für die erhöhte Prävalenz in sozioökonomisch benachteiligten Kohorten (Tandon et al., 2008). Die Beobachtung einer signifikant höheren Inzidenz bei in urbanen Gebieten geborener und dort aufgewachsener Personen, wird durch Großstadt-assoziierte Risikofaktoren erklärt (Tandon et al., 2008; van Os et al., 2009).

#### **1.1.4 Risikofaktoren**

Die intensiven Forschungsanstrengungen zur Klärung der Ätiologie der Schizophrenie deuten auf eine multifaktorielle Genese hin. Es gibt dabei relevante Risikofaktoren, die als gesichert betrachtet werden können:

An Schizophrenie erkrankte Familienangehörige, Komplikationen während der Schwangerschaft, pränatale und perinatale Geburtskomplikationen, Infektionen während der Schwangerschaft und der Kindheit, Drogenkonsum und das Aufwachsen in Großstädten werden als gesicherte Risikofaktoren, an Schizophrenie zu erkranken, betrachtet.

Bei der Entstehung der Schizophrenie scheinen dabei genetische Faktoren eine zentrale Rolle zu spielen. Diese Theorie wird durch eine deutliche familiäre Häufung schizophrener Störungen gestützt. Bei Angehörigen ersten Grades, eines an Schizophrenie erkrankten Patienten, ist das relative Risiko, im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung, etwa 5 - 15-fach erhöht (Kendler und Gardner, 1997). In Familienstudien wurde festgestellt, dass bei Verwandten 1. Grades das Risiko an Schizophrenie zu erkranken 6-17 % beträgt, bei Verwandten 2. Grades liegt das Risiko bei 4-6 % und bei Verwandten 3. Grades das Risiko 2-4 % beträgt. Bei eineiigen Zwillingen wurde ein relatives Risiko von 48 % für Schizophrenie festgestellt (Gottesman et al., 2001).

Es wird vermutet, dass bis dato nicht näher bekannte Umweltfaktoren in Städten eine Erhöhung des Erkrankungsrisikos bewirken (Lewis et al., 1992; Tandon et al.,

2008). Eine im Jahr 2013 von Stathopoulou et al. durchgeführte Studie untersuchte die Relation zwischen pränataler Exposition gegenüber Tabakrauch und der späteren Entstehung einer schizophrenen Erkrankung (Stathopoulou et al., 2013).

Ein Ernährungsdefizit und Infektionen während des 1. und frühen 2. Trimenons der Schwangerschaft werden als pränatale Risikofaktoren für die Schizophrenie betrachtet (Penner und Brown 2007, Brown, 2011; Kneeland et al., 2013). Influenza-Infektion, aber auch weitere Infektionskrankheiten, wie Röteln oder Toxoplasmose (Brown et al., 2001, Brown et al., 2005, Brown, 2011, McGrath et al., 2009), stehen im Verdacht, eine Erhöhung der Wahrscheinlichkeit an Schizophrenie zu erkranken. Als Entwicklungsmechanismus der Schizophrenie wird eine Immunreaktion des Fötus vermutet, die eine Schädigung des Gehirns mit sich bringen könnte (Penner und Brown 2007). Ein ebenfalls erhöhtes Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, wird bei hohem Alter des Vaters zum Zeitpunkt der Empfängnis angenommen (Dragomir et al., 2010; Svensson et al., 2013). Eine Geburt im Frühjahr und im Winter zeigte ein geringes, aber replizierbares erhöhtes Erkrankungsrisiko. Davies et al. stellten 2003 eine hohe Prävalenz für im Frühjahr oder Herbst geborenen Personen, fest (Davies et al., 2003).

Drogenkonsum ist ein bekannter Risikofaktor in der Entstehung der Schizophrenie, der häufig in der Adoleszenz assoziiert in der sogenannten Peergruppe vorkommt (DeLisi 2008; Gururajan et al., 2012). Der Konsum von Cannabis während der Adoleszenz gilt als ein weiterer Risikofaktor für Schizophrenie (Moore et al., 2007).

Die aktuelle Forschung tendiert zu einer multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie, bei der die genetische Vulnerabilität eine zentrale Rolle spielt. Hirnstrukturelle, neurophysiologische sowie biochemische Veränderungen können sich durch den reziproken Einfluss von genetischen und umweltbedingten Faktoren bilden. Das Resultat ist eine Prädisposition zur Manifestation der Krankheit.

### **1.1.5 Symptomatik**

Zur Diagnosestellung schizophrener Psychosen wurden verschiedene Einteilungsmodelle entwickelt, die die komplexe Symptomatik der Erkrankung berücksichtigen. In den letzten Jahrzehnten erfolgte eine Vereinheitlichung, da ohne eine verbindliche

Definition der „schizophrenen Störungen“, ohne Systematisierung und Ausdifferenzierung der diagnostischen Kategorie, die Suche nach ätiologischen Faktoren und eine Verbesserung von Prävention und Behandlung kaum zu erreichen ist.

Aktuell anerkannt sind folgende Klassifikationssysteme: zum einen wird die *International Statistical Classification of Diseases* (ICD-10) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und zum anderen wird das *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (seit 2013 in der fünften Revision, das DSM-V) der *American Psychiatric Association* (APA) benutzt. Eingesetzt wird die ICD-10 vorwiegend im klinischen Bereich. Das DSM-V wird als Basis für die Forschung verwendet, Grund hierfür sind die, im Gegensatz zum ICD-10, striktere und präzisere diagnostische Kriterien. Die Diagnose der Schizophrenie wird durch einen Kriterienkatalog des ICD-10 und DSM-V festgelegt. Dieser Katalog wird in modifizierter Form in der Tabelle 1.1 widergegeben (Möller et al., 2001).

**Tab. 1.1: Diagnostische Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 und DSM-IV entsprechend der Gliederung von Möller et al., 2001**

ICD-10	DSM-IV
Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Wahnwahrnehmung	Wahn, besonders bizarrer Wahn
Halluzinationen, besonders kommentierende und dialogisierende Stimmen	stimmungsinkongruente Halluzinationen, besonders kommentierende oder dialogisierende Stimmen
Gedankenlautwerden, -einkerbung, -entzug, Beeinflussungserlebnisse, Zerfahrenheit, Gedankenabreißen u.a.	Zerfahrenheit
katatone Symptome	katatone Symptome
negative Symptome wie Apathie, Sprachverarmung, verflachter Affekt	Affektarmut, Antriebsmangel, sozialer Rückzug
Verschlechterung der sozialen Adaptation	
charakteristische Symptomatik mindestens 1 Monat	kontinuierliche Anzeichen der Erkrankung mindestens 6 Monate
keine nachweisbare organische Ursache	keine nachweisbare organische Ursache

Es wird vom DSM-IV verlangt, dass kontinuierliche Anzeichen der Erkrankung für mindestens sechs Monate, und zwei der folgenden fünf Kriterien für mindestens einen Monat (aktive Phase), bestehen:

- Wahnideen
- Halluzinationen
- Desorganisierte Sprache
- Grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten
- Negative Symptome (Willensschwäche, flacher Affekt, Alogie, Anhedonie)

Während der prodromalen oder residualen Phase treten überdies sozialer Rückzug, Beeinträchtigung des Leistungsvermögens, flacher oder läppischer Affekt, vage und umständliche Sprache sowie mitunter eine Beeinträchtigung der Durchführung von hygienischen Maßnahmen auf. Die prämorbid Phase der Schizophrenie ist häufig durch Störung motorischer Fähigkeiten in der Kindheit, Defizite im Bereich der Aufmerksamkeit und dadurch einer Beeinträchtigung der akademischen Leistungen, Isolation im sozialen Bereich sowie emotionale Distanz charakterisiert (Schenkel et al., 2004).

Der Beginn der Prodromalphase wird, bis zu fünf Jahre, vor dem Auftreten der ersten Psychose beobachtet. Die Prodromalphase ist durch leichte psychotische Symptome, negative Symptomatik, Defizite im kognitiven Bereich, abfallende Leistungsniveau sowie andere Verhaltensänderungen charakterisiert (Tandon et al., 2009).

Die eigentliche Akutphase, in der die schizophrenen Symptome beobachtet werden, folgt in der Regel auf die Prodromalphase.

In der Residualphase, die häufig nach Abklingen der Akutphase auftritt, werden wieder vorwiegend negative Symptome beobachtet. Die Subtypen in der Schizophrenie sind in Tabelle 1.2 wiedergegeben:

Tab. 1.2: Subtypen in der Schizophrenie (nach DSM-IV)

Subtypen der Schizophrenie	Charakteristika	Hauptsächliche Symptome
<b>Paranoider Typ</b>	Häufigster Typ; Positivsymptome prägend	Wahn; Halluzinationen (v.a. akustisch)
<b>Desorganisierter Typ (Hebephrener Typ)</b>	Im Jugendalter auftretend; wird oft spät erkannt; Negativsymptome prägend	Affektive Störungen (läppische Grundstimmung, leere Heiterkeit, Gleichgültigkeit); formale Denkstörungen; soziale Isolation
<b>Katatoner Typ</b>	Besonders risikoreich (Gefahr einer perniziösen Katatonie mit Stupor und Hyperthermie); selten	Psychomotorische Störungen, die zwischen extremer Hyperkinese und Stupor schwanken können; Befehlsautomatismen; Negativismen; stereotype Haltungen; Wahn; Halluzinationen
<b>Undifferenzierter Typ</b>	Keine Subtypisierung möglich	
<b>Residualer Typ</b>	Häufig im weiteren Verlauf schizophrener Psychosen	Persönlichkeitsveränderung; Antriebsmangel; Affektarmut; sozialer Rückzug; verminderte Mimik und Gestik; Sprachverarmung; verminderte Körperpflege

Die Diagnosestellung der Schizophrenie verlangt den Ausschluss, differentialdiagnostisch, in Frage kommenden psychischen Störungen, u. a. den Ausschluss einer schizoaffektiven Störung, affektiven Störung mit psychotischen Symptomen, organisch bedingter Psychose, von Persönlichkeitsstörungen, sowie einer Autismusspektrumstörung.

### 1.1.6 Verlauf und Prognose

Der individuelle Verlauf der Erkrankung weist beträchtliche Variationen auf. Es werden drei Phasen unterschieden (Comer 2001): die Prodromalphase, die durch eher uncharakteristische Symptome mit negativer Symptomatik gekennzeichnet ist, sie kann häufig bereits Jahre vor dem Ausbruch der Erkrankung auftreten (Tandon et al., 2008). In dieser Prämorbididen Phase werden häufig unspezifische Defizite im kognitiven, motorischen und sozialen Bereich beobachtet (Cannon et al., 2002). Der kaum merkbare, schleichend progrediente Übergang in die symptomatische Erkrankung

kann sich Wochen bis Jahre hinziehen (Schultze-Lutter 2009), die Prodromalphase bleibt dabei oftmals unerkannt (Häfner et al., 2003).

Im Anschluss an die Prodromalphase zeigt sich die klinisch manifeste Akutphase. Diese ist überwiegend durch in der Regel über Wochen bzw. wenige Monate andauernde Positivsymptomen charakterisiert. Die Intensität nach einer Phase mit florider Positivsymptomatik klingt zumeist schneller ab als Phasen mit negativer Symptomatik (Tandon et al., 2009).

Nach dieser Erstmanifestation kommt es in circa 50 %, der an Schizophrenie erkrankten, zu rezidivierenden produktiven Schüben mit zwischenzeitlicher Residualsymptomatik (Möller 2004). Die Residualphase beschreibt den Verbleib von Symptomen nach Abklingen der Akutsymptomatik. Die Residualphase ist durch im Vordergrund stehenden Defizite im Bereich der Kognition und negative Symptome gekennzeichnet (Tandon et al., 2009). Ein Verlauf mit rezidivierenden akuten Schüben und zwischenzeitlicher vollständiger Remission ist, neben oben genannter Abfolge, ebenfalls möglich (Möller 2004).

Aktuell wird ein weniger schwerwiegender Verlauf der Erkrankung beobachtet, hierzu trägt eine bessere medikamentöse Behandlung bei (Menezes et al., 2006). Eine im Vergleich zur generellen Bevölkerung verdoppelte Mortalitätsrate bei an Schizophrenie Erkrankten wird dennoch weiterhin beobachtet (Parks et al., 2006). Die erhöhte Suizidrate bei an Schizophrenie Erkrankten ist für diese erhöhte Mortalität zum größten Teil verantwortlich. 30% der Patienten mit Schizophrenie weisen diesbezüglich mindestens einen Suizidversuch auf (Radomsky et al. 1999), davon sterben 10% durch Suizid (Caldwell und Gottesman 1990). Die erhöhte Mortalitätsrate wird auch auf ein erhöhtes Unfallrisiko und ein erhöhtes Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen zurückgeführt (Saha et al., 2007).

Zu Beginn der Erkrankung ist eine genaue Prognose des Verlaufs nicht möglich (Berger 2008; Emseley et al., 2008). Die Krankheitseinsicht und die Dauer bis zum Ansprechen auf antipsychotische Medikation sind wichtige Faktoren für den Krankheitsverlauf (Emsley et al., 2008). Ein akuter Ausbruch der Erkrankung, gute prämorbid Funktionsfähigkeit, gute kognitive Funktionen, Nichtvorhandensein eines Drogenkonsums, weibliches Geschlecht sowie ein später Erkrankungsbeginn werden als prognostisch günstige Faktoren eingestuft (Riecher-Rössler und Rössler 1998; Flyckt et al., 2006).

Trotz enormen Anstrengungen im letzten Jahrzehnt ist die Suche nach validen Biomarker in der Schizophrenie, die zur Früherkennung und zur einen genaueren Vorhersage des klinischen Verlaufs, Prognose und dem Ansprechen auf die Behandlung führen könnten, immer noch frustriert verlaufen. Entweder fehlen die entsprechenden Biomarker oder sie werden noch evaluiert (Schmitt et al., 2016). Aussichtsreiche Fortschritte im Bereich der Kognition und der Endophänotypen (Derntl und Habel, 2011; Kalia und Costa, 2015), der bildgebenden Verfahren (Atluri et al., 2013) und der Genetik (Vawter et al., 2011) sind jedoch bereits gemacht worden. Diese Fortschritte werden, mit großer Wahrscheinlichkeit, zu einer Besserung der Diagnosestellung sowie zur Entwicklung innovativen und personalisierten Behandlungsstrategien führen (Ozomaro et al., 2013).

### **1.1.7 Ätiologie**

Es wird von einem multifaktoriellen Modell als Erklärungsmodell für die Ätiopathogenese der Schizophrenie ausgegangen. Nach diesem multifaktoriellen Modell führt die Kombination genetischer Faktoren mit weiteren Einflüssen wie z.B. neuroanatomische und psychosoziale Ursachen zu neurophysiologischen und biochemischen Veränderungen. Dies führt, in interindividuell unterschiedlichem Ausmaß, zur Ausprägung einer erhöhten Vulnerabilität für die Manifestation der Erkrankung. Im Rahmen einer so begründeten Krankheitsprädisposition zeigen sich psychosoziale Einflüsse sowie Umweltfaktoren, dem multifaktoriellen Modell entsprechend, entweder risikosteigernd oder protektiv in Bezug auf Ausbruch und Verlauf der Erkrankung (Möller et al., 2008). Die Bezeichnung als Vulnerabilitäts-Stress-Modell beruht auf dieser Interaktion aus vorbestehender Vulnerabilitäts- und Krankheitsverlauf modulierenden Faktoren.

Die Entstehung hirnstruktureller, neurophysiologischer und/oder biochemischer Besonderheiten wird aus der Interaktion genetischer Faktoren mit Umweltvariablen begünstigt. Die dadurch erhöhte Vulnerabilität ergibt eine Prädisposition zur Manifestation der Krankheit. Hier spielen ungünstige psychosoziale Stressoren und Persönlichkeitsstrukturen für die Manifestation ebenfalls eine Rolle. Aus variablen Kombinationseffekten von genetischen und exogenen Faktoren ergibt sich somit die Krankheitsmanifestationsrisiko. Dieser Modellvorstellung nach ist die Überschreitung einer



multifaktoriellen Schwelle letztlich zur Auslösung der Erkrankung notwendig (Sawa und Snyder, 2002).

Die Two-Hit-Hypothese, die eine Kombination von Ursachen annimmt, stellt ein weiteres, prinzipiell ähnliches Erklärungsmodell dar. Nach dieser Hypothese sind 2 Faktoren als Voraussetzung für die spätere Entwicklung des Störungsbildes vonnöten.

Dies ist zum einen eine genetische Prädisposition, der *first hit*, zum anderen ein prä- oder postnataler umweltbedingter ätiologischer Faktor, der *second hit* (Bayer et al. 1999) notwendig. Sowohl der genetische als auch der umweltbedingte Faktor sind heterogen, so dass eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten die Veranlagung für die Erkrankung beeinflussen kann (Andreasen 2000). Die Auswirkungen dieser Prädisposition bewirken bereits vor der Erstmanifestation der Erkrankung eine Störung der Hirnentwicklung damit einhergehende neurobiologische und neurochemische Veränderungen.

Nach der Erstmanifestation können dann neurodegenerative Vorgänge (*third hit*) auftreten. Durch neurotoxische Faktoren auf neurophysiologischer und – immunologischer Ebene werden diese pathologischen Veränderungen ausgelöst (Liebemann et al., 2001; Boteva und Liebemann 2003; Cahn et al., 2002; Cahn et al., 2006), diese Prozesse sind für die Chronifizierung der Erkrankung mitverantwortlich.

## 1.2 Genetik der Schizophrenie

Die starke genetische Komponente, in der Entstehung der Schizophrenie, gilt aufgrund von familiärer Häufung als belegt (Cardno et al., 1999; Tsuang et al., 2001; Cloninger, 2002). Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien werden zur Differenzierung des Einflusses genetischer Faktoren bzw. Umweltfaktoren herangezogen. Sowohl Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien (Cardno und Gottesmann, 2000; Sullivan et al., 2003; Wray und Gottesmann, 2012) als auch auf genomweiten-Assoziationsstudien basierten Schätzungen (Gusev et al., 2014) lassen auf einen ausgeprägten genetischen Aspekt in der Entstehung der Erkrankung schliessen (Schmitt et al., 2016).

### 1.2.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien stellen die Häufigkeit des Auftretens von Schizophrenie in Abhängigkeit vom Grad der Verwandtschaft fest. Familienstudien treffen eine Aussage über die Häufung einer Diagnose bzw. Erkrankung in der Familie. Eine Differenzierung von Ursachenfaktoren (genetische Faktoren, Umweltfaktoren) ist durch Familienstudien jedoch nicht möglich (Maier et al., 2008). Eine erhöhte Wahrscheinlichkeit zu erkranken wurde in einer schwedischen Kohorte bei Erstgradangehörigen von Schizophreniepatienten ( $n = 35.985$ ) nachgewiesen. Das relative Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, betrug 9,9 für Kinder erkrankter Eltern bzw. 9,0 für Geschwister erkrankter Geschwister (Lichtenstein et al. 2009). Halbgeschwister wiesen ebenfalls ein erhöhtes relatives Risiko auf. Eine Lebenszeitprävalenz, bei Erstgradangehörigen, zwischen 1 bis 16 % wurde in einer weiteren Studie festgestellt. Im Vergleich zu Angehörigen Gesunder betrug die Lebenszeitprävalenz 0 bis 2 % (Maier et al., 1999). Es soll jedoch Berücksichtigung in den Ergebnissen finden, dass das Umgebungsmilieu dasselbe bzw. sehr ähnlich ist, die Differenzierung zwischen soziokulturellen und genetischen Ursachen ist dadurch nicht möglich. Diese Faktoren werden im Studiendesign von Zwillings- und Adoptionsstudien berücksichtigt.

Eine weitere Methode, zur genaueren Differenzierung des jeweiligen Beitrags, zur Entstehung der Schizophrenie von Genetik und Umwelt sind die Zwillingsstudien. Das Erkrankungsrisiko ist mit dem Grad der genetischen Verwandtschaft assoziiert. Dies wird, möglichst ähnlicher Umweltbedingungen vorausgesetzt, durch den Vergleich der Konkordanzraten mono- und dizygoter Zwillinge (Fabisch et al., 2005). Die deutlich erhöhte Erkrankungsrate an Schizophrenie bei mono- und dizygoten Zwillingen konnte durch Metaanalysen (Sullivan et al., 2003; Maier et al., 1999) belegt werden. Allerdings bestand keine vollständige Konkordanz, was die Relevanz nichtgenetischer Einflüsse auf die Erkrankung betont und den multifaktoriellen Denkansatz bekräftigt (Petronis 2006, 2004; Owen et al., 2005).

Adoptionsstudien ermöglichen eine verlässliche Trennung zwischen soziokulturellen und genetischen Ursachen (Ingraham und Kety, 2000). Kinder von an Schizophrenie erkrankten Eltern werden von Adoptiveltern, die nicht an Schizophrenie erkrankt waren, aufgezogen, dadurch wurde festgestellt, dass das erhöhte Risiko an Schizophrenie zu erkranken, bei den Kindern mit biologisch an Schizophrenie erkrankten Eltern weiterhin bestand. Bei Kindern gesunder Eltern, die bei an Schizo-

phrenie erkrankten Eltern aufwuchsen, wurde im Gegensatz dazu keine erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit festgestellt (Kendler et al., 1994; Petersen und Sorensen 2011).

### 1.2.2 Molekulargenetik

Die starke Bedeutung der genetischen Anlage bei der Schizophrenie wird durch psychiatrisch-epidemiologische Befunde belegt. Die Schizophrenie ist eine genetisch komplexe Erkrankung, deren Vererbungsmuster nicht durch einen Mendelschen Erbgang folgt (Giusti-Rodriguez & Sullivan, 2013). Es wird davon ausgegangen, dass eine Vielzahl von Genen Risikoallele aufweisen. Weiterhin ist die genetische Anlage, durch eine Kombination von häufigen Allelen mit geringen Effekten und seltenen Allelen mit starken Effekten, bedingt (Owen et al., 2009). Das heißt, häufig in der allgemeinen Bevölkerung vorkommende Allele in Zusammenhang mit seltenen Allelen steuern die Wahrscheinlichkeit an Schizophrenie zu erkranken (Schmitt et al., 2016). Nicht geklärt ist wie viele risikosteigernde Genvarianten es letztlich gibt, wie die Interaktion miteinander stattfindet und wie stark die einzelnen Variablen das Erkrankungsrisiko steigern (Owen, 2000). Es wird ebenfalls davon ausgegangen, dass eine Erkrankung durch unterschiedliche Kombinationen einer Vielzahl genetischer Varianten bedingt wird und dadurch der Unterschied der Genkonstellationen zwischen verschiedenen Individuen zustande kommt (Harrison & Weinberger, 2005).

Um Suszeptibilitätsgene identifizieren und lokalisieren zu können kann man unter anderem auf folgende Untersuchungen zurückgreifen, Kopplungs- und Assoziationsstudien sind in der Praxis eng miteinander verwoben. So weist z. B. ein Kandidatengen oder eine signifikant mit einem Phänotyp assoziierte Variation eine hohe Plausibilität auf, welche in einem Locus mit positiven Kopplungshinweisen positioniert ist (Spitzer 2006). Genetische Polymorphismen werden in Form von SNPs, VNTRs (*variable number tandem repeats*) und STRs (*short tandem repeats*) untersucht.

Die sogenannten *copy number variants* (CNV) stehen neben den Einzelnukleotid-Polymorphismen im zunehmenden Interesse der molekulargenetischen Forschung. CNVs sind strukturelle Genvariationen, die selten vorkommen und relativ groß sind. Zudem führen sie zu abweichenden Kopieanzahlen eines bestimmten DNA-Locus, d.h. der Locus kann im diploiden Genom entweder nur als eine Kopie vorliegen (Deletion), oder als drei oder mehr (Duplikation), oder auch völlig fehlen (homozygote

Deletion). Dies erklärt warum die Veränderungen der DNA durch CNVs größer sind als bei SNPs (Redon et al. 2006). Dies führt zu den relativ großen Effekten von CNVs auf die Manifestation psychiatrischer Erkrankungen (Saus et al. 2010; Malhotra und Sebat 2012).

Die systematische Untersuchung des gesamten Genoms mittels Assoziationsuntersuchungen erfordert die Genotypisierung mehrerer Millionen SNPs, was dank des technischen Fortschritts mittlerweile als Standard gilt (Rujescu, 2010) und die Realisierung genomweiter Assoziationsstudien (GWAS) ermöglicht. In GWAS kann genomweit mit der hohen Empfindlichkeit einer Assoziationsuntersuchung nach Suszeptibilitätsloci gesucht werden. Die genomweiten Assoziationsuntersuchungen ermöglichen zudem ein hypothesenfreies Vorgehen. Durch die Detektion unbekannter Kandidatengene kann ebenfalls in bislang unbekannte pathophysiologische Prozesse Einsicht gewonnen werden (Cichon et al., 2009).

Zur Lokalisierung und Identifizierung von Suszeptibilitätsgenen steht das so genannte *exome sequencing*, eine weitere Untersuchungsmethode, zur Verfügung. Diese Untersuchungsmethode ist eine Technik zur Sequenzierung aller proteinkodierenden Gene innerhalb eines Genoms (als Exom bekannt). Zunächst erfolgt die Selektion von proteinkodierenden DNA-Fragmenten (so genannte Exons), anschließend wird die restliche DNA sequenziert. Hierbei wird eins von den üblichen Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierungssysteme eingesetzt. Es gibt 180.000 Exons, diese machen circa 1 % des menschlichen Genoms aus und bestehen annähernd 30 Millionen DNA-Basenpaaren. Mutationen in diesen Bereichen haben jedoch häufiger schwerwiegende Folgen als in den restlichen 99 % des menschlichen Genoms (Ng et al., 2009). Dieser Ansatz verfolgt das Ziel, die genetische Variabilität, von seltenen dominant vererbten Erkrankungen als auch die von häufigen Erkrankungen wie die Schizophrenie, zu eruieren.

Xu et al. führten in einer Studie die Analyse von Exomsequenzen bei 53 sporadischen Schizophrenie-Fällen, 22 gesunden Kontrollen, sowie deren Eltern durch. Ziel der Forschungsgruppe um Xu war den potentiellen Einfluss proteinverändernder *de novo* Mutationen als genetische Komponente in der Schizophrenie zu untersuchen. Die Autoren identifizierten 40 *de novo* Mutationen in 27 Fällen, die jeweils verschiedene Genen betrafen, einschließlich einer potentiell disruptiven Mutation in DGCR2, ein Gen, der in einer für Schizophrenie prädisponierenden Region (22q11.2) lokalisiert ist.

siert ist. Der Vergleich mit seltenen erblichen Varianten deutete darauf hin, dass diese *de novo* Mutationen eine große Anzahl an nicht synonymen Veränderungen in den Schizophrenie-Fällen zeigen, sowie ein starkes Potenzial aufwiesen Proteine strukturell und funktional zu beeinflussen. Die Ergebnisse deuten auf eine zentrale Rolle der *de novo* Mutationen in der Ätiopathogenese der Schizophrenie hin. Diese *de novo* Mutationen, zusammen mit den häufigen Allel-Mutationen, stellen ein plausibles Erklärungsmodell für die hohe globale Inzidenz und Persistenz der Schizophrenie dar (Xu et al., 2011).

Im Jahr 2014 führten Purcell et al. die Analyse von Exomsequenzen bei 2,536 an Schizophrenie erkrankten Patienten und bei 2,543 Kontrollen durch. In dieser Studie konnten die Autoren eine polygenetische Belastung belegen, die in erster Linie aus seltenen (weniger als 1 von 10.000), sich negativ auswirkenden, in vielen Genen verteilten Mutationen zurückgeführt werden. Die Autoren kamen zur Schlussfolgerung, dass diese Ergebnisse die Hypothese untermauern, dass populationsbasierte Exomsequenzierungsanalysen neue Risikoallelen entdecken und die bereits etablierten Untersuchungsmethoden auf der Suche nach Suszeptibilitätsgenen bei neuropsychiatrischen Erkrankungen ergänzen können (Purcell et al., 2014).

### **1.2.2.1 Kopplungsstudien zur Schizophrenie**

Ziel der Kopplungsanalysen ist es den Nachweis gemeinsamer Vererbung einer Krankheit mit einem polymorphen Marker innerhalb einer Familie zu erbringen. Dies erfordert Familien mit zwei oder mehr erkrankten Mitgliedern, wobei es sich nicht um Großfamilien handeln muss, wie sie bei monogenen Erbkrankheiten von Vorteil sind. Vor allem erkrankte Eltern- Kind Trios oder auch Geschwisterpaare sind für Kopplungsanalysen von komplexen Krankheiten geeignet. Grund hierfür ist die Annahme, dass bei diesen sogenannten Kernfamilien eher eine Homogenität für genetische Faktoren vorliegt (Maier et al., 1999). Die Durchführung der ersten Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie erfolgte in der Annahme, dass Gene mit einer Hauptwirkung identifiziert werden können. Mutationen mit Penetranz hinsichtlich einer klaren phänotypischen Manifestation sind aber vermutlich äußerst selten oder nicht vorhanden (McGuffin und Owen, 1996).

Zwei Metaanalysen versuchten die wichtigsten Kopplungssignale herauszufinden (Lewis et al., 2003; Badner et al., 2002). 2003 werteten Lewis et al. in einer groß an-

gelegten Metaanalyse die Daten von 20 genomweiten Kopplungsstudien mit über 1200 Stammbäumen zur Schizophrenie aus. Die Autoren fanden eine größere Übereinstimmung der Ergebnisse bisheriger Kopplungsstudien als bislang angenommen. Diese Metaanalyse konnte, so die Autoren, auch zur Bestätigung verschiedener Hinweise auf Kopplungen herangezogen werden, die sich aus der Betrachtung homogener oder isolierter Bevölkerungsgruppen an einer geringeren Anzahl von Stammbäumen ergaben. Eine genomweite signifikante Kopplung konnte für den Genabschnitt p12-q22.1 auf Chromosom 2 festgestellt werden (Lewis et al., 2003). Badner et al. fanden 2002 in einer weiteren genomischen Metaanalyse von Kopplungsstudien starke Evidenz für eine signifikante Kopplung für die chromosomalen Loci 8p, 13q und 22q (Badner und Gershon, 2002). Eine weitere Metaanalyse von Ng et al. zeigte übereinstimmend zu der Studie von Lewis et al. (2003) einen genomweiten Kopplungsbefund auf Chromosom 2q (118,7-152 Mb). Darüber hinaus wurden Hinweise für eine Kopplung von 5q (141.8-167.7 Mb) und 2q (103.3-134 Mb) gefunden sowie in einer Subpopulation europäischer Abstammung für 8p (15.7-32.7 Mb) (Ng et al. 2009).

Um die bisherige Inkonsistenz bzw. fehlenden Replizierbarkeit der Studienergebnisse zu untersuchen, wurde von Tang et al. eine vergleichende Metaanalyse von Kopplungsstudien mit zwei unterschiedlichen Methoden der Metaanalyse (GSMA, *genome scan meta-analysis* und MSP, *multiple scan probability*) durchgeführt. Die beiden Methoden ergaben unterschiedliche gekoppelte Genloci, die sich größtenteils nicht überlappten. Sowohl die Ergebnisse nach GSMA als auch die nach MSP konnten nach der Korrektur durch multiples Testen ihre Evidenz nicht aufrechterhalten (Tang et al., 2011). Fabisch et al. (2005) kamen zu der Schlussfolgerung, dass die bisher aufgedeckten Kopplungsbefunde aufgrund ihrer geringen Kopplungsstärke zugunsten der Hypothese gewertet werden, dass eine genetisch bedingte Vulnerabilität dadurch entsteht, dass viele Mutationen, mit geringem Beitrag, in Kombination auftreten.

### **1.2.2.2 Assoziationsstudien zur Schizophrenie**

Man spricht von einer Assoziation eines genetischen Markers mit einer Erkrankung, wenn einen Unterschied zwischen der relativen Häufigkeit des Markers bei Erkrankten gegenüber gesunden Kontrollen vorliegt. Genetische Assoziationsstudien sind

dementsprechend den klassischen epidemiologischen Fall-Kontroll-Studien sehr ähnlich. Es existieren allerdings einige, speziell für die genetische Forschung entwickelten Erweiterungen und Designs. Aktuell werden zahlreiche genetische Assoziationsstudien durchgeführt. *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) sowie kurze sich wiederholende DNA-Sequenzen, so genannte Mikrosatelliten, finden hierfür als Marker Verwendung.

Assoziationsuntersuchungen sind ein sensitives Verfahren, um Risikogenen mit geringem Beitrag zur Krankheitsgenese nachweisen zu können. Kandidatengene sind Gene, bei denen die Annahme besteht, dass sie ein Beitrag zur Krankheitsentstehung leisten können. Es besteht folglich die Vermutung, dass eine Assoziation zwischen diesem Risikofaktor und der Erkrankung besteht. Die Durchführung dieser Untersuchungen erfolgt meist als Fall-Kontroll-Studien. Dies bedeutet, dass eine Kohorte an Patienten und an gesunden Probanden untersucht wird. Dabei erfolgt der Vergleich der Häufigkeit bestimmter Genvarianten eines Kandidatengens in beiden Kollektiven, ergibt sich dabei eine überzufällige Häufung einer Variante in Allel- oder Genotypverteilung, liegt folglich eine Assoziation der Variante mit der Erkrankung vor.

Bei der Analyse von Kandidatengen wird entweder eine weitere Eingrenzung von, in Kopplungsanalysen, ermittelten Kandidatenregionen verwendet oder eine direkte Untersuchung von Kandidatengenen durchgeführt (Bickeböllner und Fischer 2007). Die Untersuchungsmethode geht jedoch mit der Gefahr falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse einher (Hunter und Kraft 2007). Nnadi und Malhotra (2007) erwähnen diesbezüglich, dass bevor der Katalog häufiger DNA-Polymorphismen publiziert wurde (International HapMap Consortium 2005) und vor der Entwicklung fortschrittlicher Verfahren in Bezug auf Genotypisierung, klare Hinweise auf Regionen mit Kandidatengenen vonnöten waren, welche aus Kopplungsstudien oder aus theoretischen Überlegungen zur Pathogenese und aus pharmakogenetischen Untersuchungen stammten.

Die *Odds Ratio* (OR) wird zur Bewertung der Assoziation von Kandidatengenen und der Erkrankung verwendet. Mit der *Odds Ratio* wird die Quote ausgedrückt, um wie viel größer die Möglichkeit einer Erkrankung in der Gruppe mit Risikofaktor ist, im Vergleich zur Gruppe ohne Risikofaktor. Die OR stellt eine gute Näherung an das relative Risiko bei seltenen Erkrankungen dar (Bickeböllner und Fischer 2007).

Die Tabelle 1.3 zeigt einige Kandidatengene mit mutmaßlich starker Assoziation zur Schizophrenie, u. a. RGS4 (Williams et al., 2004), DTNBP1 (Williams et al., 2005; Norton et al., 2006), DISC1 (Millar et al., 2000) oder NRG1 (Stefansson et al., 2002, 2003; Norton et al., 2006). Assoziationsstudien werden aktuell nicht mehr als Kandidatengen-Analysen, sondern als GWAS (genomweite Assoziationsstudien, siehe unten) durchgeführt.

**Tab. 1.3: Übersicht über chromosomale Loci aus Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie mit Angabe von Kandidatengenen (Remschmidt und Theisen 2011).**

Chromosom	Locus	Kandidatengene
1	1q	DISC1, RGS4, CAPON
5	5q	DRD1
6	6p21-24	DTNBP1, SCA, LDL-PLA2, HLA, Notsch4
	6q21-25	TRAR5
8	8p	NRG1, PPP3CC
10	10p	
11	11q	TPH1, DRD4
	11q	DRD2
13	13q	5HTR2A, G20, G30
15	15q13-15	CHRNA7
22	22q11	COMT, ZDHHC8, PRODH

### 1.2.2.3 Genomweite Assoziationsstudien

Die genetische Forschung der Schizophrenie konzentrierte sich lange auf die Identifikation gekoppelter Regionen oder Kandidatengene und Polymorphismen. In Vorstudien wurden Dutzende von Genen und Varianten mit der Schizophrenie in Verbindung gebracht, eine endgültige Assoziation eines Genes mit der Schizophrenie wird aber generell nicht akzeptiert (Need et al., 2009).

Ein zunehmender Überblick über Genvarianten konnte durch die Entschlüsselung des menschlichen Genoms erreicht werden. Eine Form der Variation ist der Austausch einzelner Bausteine, wobei eine der Basen (Thymin, Cytosin, Adenin, Guanin) durch eine andere ersetzt wird. Die Bezeichnung für diese Art von Variation ist Einzelbasenpolymorphismus oder „*single nucleotide polymorphism*“ (SNP). Mithilfe



von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) besteht aktuell die Möglichkeit, eine große Zahl dieser im menschlichen Genom vorkommenden Varianten gleichzeitig zu untersuchen. Diese Untersuchungsmethoden verfolgen das Ziel, neue Krankheitsgene zu finden (Mössner et al., 2009).

Genoweite Assoziationsstudien stellen eine bedeutende Entwicklung in der Human-genetik dar (Schmitt et al., 2016). Die GWAS machen die Entdeckung neuer Gene und Signalwege möglich, die auf komplexe Merkmale wie die Schizophrenie Einfluss haben. GWAS eignen sich, besser als Kopplungsstudien, zur Detektion von kleineren Effekten. Dies wird durch eine grössere Teststärke der GWAS erreicht (Need et al., 2009).

Die erste durchgeführte GWAS wurde mit einer kleinen Probe (178 Patienten und 144 Kontrollen) kaukasischer Abstammung realisiert. Es wurden Patienten und Kontrollen in den USA rekrutiert, dabei wurde eine Assoziation eines SNPs in der pseudoautosomalen Region des Y-Chromosoms ( $p=3.7 \times 10^{-7}$ ) festgestellt (Lencz et al., 2007). Bei einer weiteren Studie, die gepooltes DNA-Material von 600 an Schizophrenie erkrankten Probanden und 2771 Kontrollen aschkenasisch-jüdischer Abstammung verwendete, konnte eine genomweite Assoziation des RELN (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*) SNPs und der Schizophrenie nur im weiblichen Geschlecht festgestellt (Shifman et al., 2008). Eine im Jahr 2009 von Kirov et al. durchgeführte GWAS verwendete gepooltes DNA-Material von 574 Trios mit einem an Schizophrenie erkrankten Indexpatienten und 605 Kontrollpersonen, es wurden keine genomweiten Assoziationen gefunden (Kirov et al., 2009). Die nächste Studie mit 738 Patienten und 733 Kontrollen (jede mit ungefähr 30% Afroamerikanern, 56% Euroamerikanern und 14% anderen Ethnizitäten) konnte ebenfalls keine Evidenz für die Beteiligung von SNPs in der Schizophrenie feststellen (Sullivan et al., 2008). O'Donovan et al. führten eine weitere Studie durch. Diese umfasste 479 Patienten, die mit 2937 WTCCC (Wellcome Trust Case-Control Consortium) Kontrollen verglichen wurden. Das Suszeptibilitätsgen ZNF804A (*Zinc finger protein 804A*) in der chromosomalen Region 2q32.1 konnte hier festgestellt werden. Dieses konnte auch in einer unabhängigen Population mit 16.726 Studienteilnehmern repliziert werden.

Need et al. (2009) führten eine GWAS mit 871 Patienten und 863 Kontrollprobanden europäischen Ursprungs durch. In der Studie konnten unter den getesteten SNPs

keine neuen Suszeptibilitätsloci gefunden werden. Zudem konnten bereits anderweitig berichtete Loci nicht repliziert werden (Need et al., 2009).

Eine signifikante Assoziation zwischen SNPs der erweiterten MHC-Region (Major Histocompatibility Complex-Region) auf Chromosom 6p22.1 und der Schizophrenie konnte von Shi et al. gezeigt werden (Shi et al., 2009). Diese Erkenntnisse wurden von Stefansson et al. (2009) bestätigt. Anhand der Kombination von Daten mehrerer großer Assoziationsstudien konnten sie die MHC-Region auf Chromosom 6p21.3-22.1 als mögliche Suszeptibilitätsregion erkannt werden. Stefansson et al. betrachteten dies als einen Hinweis auf eine immunologische Komponente der Ätiologie von Schizophrenien (Stefansson et al., 2009). Signifikante Ergebnisse für Marker nahe des *Neurogranins* (NRGN) auf 11q24.2 und im Gen des Transkriptionsfaktors 4 (TCF4) auf 18q21.2 wurden ebenfalls berichtet. Diese Gene sind an der Hirnentwicklung, der Gedächtnisbildung und der kognitiven Funktionen beteiligt (Stefansson et al., 2009).

Bei der von Athanasiu et al. durchgeführten GWAS an 2.663 schizophrenen Patienten und 13.780 Kontrollen einer europäischen Population innerhalb des SGENE-plus Konsortiums konnte eine Assoziation mit dem PLAA Gen (*Phospholipase A-2-activating protein*) auf 9p21, dem ACSM1-Gen (*Acyl-CoA synthetase medium-chain 1*) auf 16p12 und dem ANK3-Gen (*Ankyrin-3*) auf 10q21 identifiziert werden (Athanasiu et al., 2010).

Eine weitere GWAS untersuchte sowohl Schizophreniepatienten als auch solche mit einer bipolaren Störung. Hierbei konnten in Bezug auf der Schizophrenie keine genetische Assoziationen festgestellt werden (Djurovic et al., 2010).

Ripke et al. analysierten die Rolle der genetischen Variation bei der Schizophrenie in einer GWAS an 21.856 Schizophreniepatienten europäischer Abstammung und 29.839 Kontrollen. Genomweite signifikante Assoziationen zur Schizophrenie konnten von Ripke et al. bei 7 Loci festgestellt werden. Hier gelang die Identifikation von 5 Loci, die zum ersten Mal in Zusammenhang mit Schizophrenie gebracht werden konnten (1p21.3, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3 und 10q24.32-q24.33) sowie von 2 weiteren Loci (6p21.32-p22.1 und 18q21.2), die bereits von Stefansson et al. (2009) mit der Schizophrenie in Verbindung gebracht wurden. Der relevanteste Befund ( $P = 1.6 \times 10^{-11}$ ) war mit rs1625579 innerhalb eines Introns von MIR137 (*microRNA 137*) lokalisiert, einem bekannten Regulator neuronaler Entwicklung. Darüber hinaus be-

inhaltenen 4 weitere in Verbindung mit der Schizophrenie gebrachte Loci Zielbereiche von MIR137. Dies lässt eine durch MIR137 beeinflusste Störung vermuten. Ripke et al. schlussfolgerten, dass diese Befunde die bekannte Rolle von MIR137 in der neuronalen Reifung und Funktion untermauern und erlauben somit neue Einblicke in der Pathogenese der Schizophrenie (Ripke et al., 2011).

Bei der bislang größten genomweiten Assoziationsstudie der Schizophrenie wurden Proben von bis zu 36.989 Patienten und 113.075 gesunden Kontrollprobanden untersucht (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Hierbei erfolgte die Identifikation von 108 Loci, die genomweit signifikant mit der Schizophrenie assoziiert waren, 83 Loci wurden dabei zum ersten Mal beschrieben. Die Assoziationen wurden v.a. bei im Gehirn exprimierten Genen, wie z.B. DRD2 sowie solchen Genen, die bei glutamaterger Transmission und synaptischer Plastizität eine Rolle spielen (z.B. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1), festgestellt. Darüber hinaus wurden zahlreiche Assoziationen mit Genen festgestellt, die in Geweben exprimiert werden, die mit dem Immunsystem involviert sind (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Schmitt et al. konnten feststellen, dass die Assoziation der HLA (*human leucocyte antigen*)-Region mit der Schizophrenie das solideste und am meisten replizierte Ergebniss der bis dato durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien darstellt. Darüber hinaus weisen Polymorphismen auf eine glutamaterge Dysfunktion in der Schizophrenie hin, sowie auf eine Dysfunktion in anderen der neuronalen Entwicklung betreffenden Bereichen, die aber, selbst auf Populationsebene, keine Risikofaktoren darstellen (Schmitt et al., 2016).

#### **1.2.2.4 Copy number variants (Genkopieanzahlvarianten)**

Die Detektion signifikanter Assoziationen von Einzelbasenaustauschpolymorphismen und komplexen Phänotypen wie der Schizophrenie mittels GWAS ist aufgrund der geringen Effektstärke und der Problematik des multiplen Testens als problematisch. Dagegen kann die Identifikation von Assoziationen zu langen Genkopiezahlvarianten problemlos mit den genomweiten Screens durchgeführt werden, selbst wenn diese CNVs (*copy number variants*) nur in einer oder in wenigen Proben vorhanden sind. Die Entstehung von CNVs kann durch nukleare Deletionen, Insertionen oder Duplikationen zustande kommen. Trans-

lokationen und Inversionen haben den gleichen Effekt wie Deletionen, Insertionen und Duplikationen zur Folge, diese gehen jedoch nicht mit einer Veränderung der Kopienzahl einher. Inwieweit CNVs den Phänotyp beziehungsweise das Auftreten einer Erkrankung beeinflussen, konnte bis dato nicht geklärt werden (Geigl et al., 2010).

Walsh et al. fanden in Studien mit genomweiten Screens heraus, dass seltene Deletionen und Duplikationen >100kb signifikant häufiger bei an Schizophrenie Erkrankten zu finden sind als bei den Kontrollen, und dass die betroffenen Gene überproportional an der neuronalen Entwicklung beteiligt sind (Walsh et al., 2008). Eine weitere von Xu et al. durchgeführte Studie stellte fest, dass *de novo* CNVs acht-mal häufiger bei sporadischen Schizophrenie Fällen detektierbar waren als bei familiären Fällen oder bei gesunden Kontrollen (Xu et al., 2008). Stefansson et al. screenen *de novo* CNVs und fokussierten sich auf drei rekurrente CNVs in 4,718 Patienten und 41,201 Kontrollen, die in 1q21.1, 15q11.2 und 15q13.3 lokalisiert sind, mit Odds Ratios von 14.8, 2.7 und 11.5.

Steffansson et al. stellten Deletionen in Bereichen (1q21.1, 15q11.2 und 15q13.3) fest, die mit der Manifestation von Schizophrenie und mit Schizophrenie verwandten Psychosen eine signifikante Assoziation zeigten (Stefansson et al., 2008).

Need et al. (2009) führten die Untersuchung von CNVs im Bezug auf die Schizophrenie durch. Die Studie schloss 1.013 Schizophreniepatienten und 1.084 Kontrollen ebenfalls europäischen Ursprungs sowie 60 Patienten und 63 Kontrollen afrikanischer Herkunft mit ein. Hierbei konnten CNVs, wie die in NRXN1 (*Neurexin 1*), welche auch von Rujescu et al. (2009) beschrieben wurden und APBA2 (*Amyloid beta A4 precursor protein-binding A2*) bestätigt werden (Need et al., 2009). Ebenfalls im Jahr 2009 veröffentlichten Kirov et al. (2009) zwei neue Deletionen in Zusammenhang mit der Schizophrenie: 22q11.2 und 17p12. In einer Studie der Forschungsgruppe um Freudenberg zeigte sich, dass die Lage der CNVs häufig mit der von Kandidatengenomen überlappt. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass es sich bei den CNVs, die bei an Schizophrenie Erkrankten häufiger vorkommen als bei gesunden Kontrollen, vor allem um größere (> 100 kb) handelt (Freudenberg und Freudenberg-Hua, 2012).

### 1.3 Neuropsychologie der Schizophrenie

Die Schizophrenie wird als eine Erkrankung mit neurobiologischen Störungen beschrieben, bei der unter anderem ein ausgeprägt kognitives Element in der Diskussion steht (Harrison and Weinberger, 2005; Keshavan et al., 2008). Die psychotischen Phänomene der Schizophrenie sind sehr markant und stehen bisher im Vordergrund der Erkrankungssymptome. Die subtileren kognitiven Defizite werden zunehmend als ein zentrales Paradigma in der Krankheit betrachtet (Antonova et al., 2004). Die kognitive Symptome gehen zumeist mit einer Beeinträchtigung von Fähigkeiten und einer verminderten funktionalen Leistung einher (Bowie and Harvey, 2005).

#### 1.3.1 Kognitive Beeinträchtigung bei der Schizophrenie

Nach Goldman-Rakic et al gilt die Kognitive Dysfunktion als das größte Defizit der Schizophrenie (Goldman-Rakic et al., 2004). Die kognitiven Defizite betreffen in unterschiedlicher Ausprägung beinahe alle kognitiven Bereichen (Heinrichs & Zakzanis, 1998). Exekutive Funktionen (höhere kognitive Prozesse, z.B. Problemlösen, Nutzung abstrakter Konzepte), das verbale und das nonverbale Gedächtnis, die Aufmerksamkeit und die Sprache sind die kognitive Domäne die bei an Schizophrenie Erkrankter vorwiegend betroffen sind (Elvevag et al., 2002). Diese kognitive Defizite sind zu Beginn der schizophrenen Störung vorhanden, werden aber auch im Krankheitsverlauf beobachtet (Bilder et al., 2000). Hauptsächlich kognitive Prozesse, die durch den präfrontalen Kortex vermittelt werden, werden bei der schizophrenen Störung beeinträchtigt (Arnsten, 2011; Owens et al., 2012). Schmitt et al. fanden Daten, die belegen, dass die soziale Kognition als Prädiktionsfaktor zwischen neurokognitiven Defiziten und funktionalem *Outcome* in der Schizophrenie fungieren könnte (Schmitt et al., 2016). Zudem geben Lapage et al. an, dass das verbale Gedächtnis und Störungen der sozialen Kognition solide Marker für eine schlechte klinische Prognose der Schizophrenie sind (Lepage et al., 2014). Fett et al. und Schmidt et al. konnten in ihren jeweiligen Studien herausfinden, dass der Bereich soziale Kognition eine starke Assoziation mit der „*Community functioning*“ (Funktionsfähigkeit in der Gemeinschaft) zeigt und dadurch einen indirekten Zusammenhang zwischen Neurokognition und funktionalem *Outcome* ist (Fett et al., 2011; Schmidt et al., 2011).

Kognitive Dysfunktion kann bei einer sehr hohen Anzahl an Schizophrenie Erkrankter nachgewiesen werden. Es besteht keinen Zusammenhang zwischen der kognitiven Dysfunktion und der klinischen Symptomatik (Keefe & Fenton, 2007). Die kognitive Beeinträchtigungen werden teilweise bereits vor dem Erkrankungsausbruch beobachtet (Johnstone et al., 2005). Zudem werden die kognitiven Defizite nicht auf die antipsychotische Medikation zurückgeführt (Mohamed et al., 1999; Torrey, 2002).

Die kognitive Beeinträchtigung wird zu einem geringen Grad in den biologischen Verwandten schizophrener Patienten beobachtet (Snitz et al., 2006). Ross et al. beschrieben, dass die Aspekte kognitiver Beeinträchtigungen in der Schizophrenie möglicherweise unter spezifisch genetischer Kontrolle sind (Ross et al., 2006). Die Beobachtung, dass unter gesunden Zwillingen von an Schizophrenie Erkrankten bei monozygoten Zwillingen eine stärkere Korrelation der kognitiven Defizite als bei dizygoten festgestellt werden konnte wird von Cannon et al. als starker Hinweis auf Heritabilität der kognitiven Defizite betrachtet (Cannon et al., 2000).

### **1.3.2 Gedächtnis und Schizophrenie**

Die Schizophrenie wird häufig von Gedächtnisstörungen begleitet. Dies wurde von zahlreiche Studien belegt (Alle et al., 1993; Aleman et al., 1999; Bilder et al., 2000; Clare et al., 1993; Elvevag et al., 2002; Elvevag, Fisher, and Goldberg, 2003; Goldberg et al., 1993; Gruzelier et al., 1988; Heinrichs and Zakzanis, 1998; Kenny and Meltzer, 1991; Kuperberg and Heckers, 2000; Randolph et al., 1993; Saykin et al., 1991; Schwartz et al., 1992).

Aleman et al. führten Metaanalysen durch, in der Studien zu Gedächtnisleistungen (Langzeit- und Kurzzeitgedächtnis) bei an Schizophrenie Erkrankten (467 Patienten in 6 Studien ohne Medikation und 2629 Patienten in 50 Studien mit neuroleptischer Therapie) und bei gesunden Kontrollen zusammengefasst wurden (Borgwardt et al., 2004). Die Forschungsgruppe um Aleman fand heraus, dass Schizophreniepatienten signifikante Gedächtnisstörungen aufweisen und dass diese unabhängig von Alter, Medikation, Dauer der Erkrankung, Schwere der Psychopathologie und positiven Symptomen waren (Borgwardt et al., 2004).

Bei an Schizophrenie erkrankten Patienten liegt eine eindeutige Störung der zentral exekutiven Funktion, insbesondere die Manipulation von passager gespeicherter Information (Cannon et al., 2005; Tan et al., 2005). Diese Dysfunktion wird von einer

gestörten Aktivierung des dorsolateralen präfrontalen Kortex begleitet (DLPFC). Der dorsolaterale präfrontale Kortex ist ein mit exekutiven Funktionen assoziiertes Gehirnareal (Callicott et al., 2003). Barch und MacDonald vermuten, dass die gestörte Aktivierung des DLPFC unter solchen Bedingungen möglicherweise spezifisch zum Krankheitsprozess der Schizophrenie ist. Grund hierfür sei, so die Forscher um Barch und MacDonald, dass diese Alteration bei Individuen mit Schizophrenie, die noch nie eine neuroleptische Medikation bekommen haben, vorhanden ist, aber nicht bei anderen Individuen mit psychotischen Störungen oder Depression (Barch et al., 2003; MacDonald, III et al., 2005).

Etliche Studien konnten Gedächtnisstörungen bei an Schizophrenie erkrankten Patienten zeigen. Die Dysfunktionen lagen sowohl beim impliziten als auch beim expliziten Gedächtnis (Clare et al., 1993; Schwartz et al., 1992).

Allen et al. fanden in einer Studie heraus, dass die Leistungen des prozeduralen Gedächtnisses sich nicht zwischen an Schizophrenie erkrankten Patienten und gesunden Probanden unterscheiden. Allen et al. gehen bei Patienten mit Schizophrenie sowohl von einem defizitären semantischen und episodischen Gedächtnis, als auch von ungestörten prozeduralen Lernfunktionen aus (Allen et al., 1993). Die Gedächtnisstörungen sollen stärker bei chronischer als bei akuter Schizophrenie sein (Gruzelić et al., 1988).

### **1.3.3 Neuroplastizität und Schizophrenie**

In Anbetracht der Ätiologie können die meisten Fälle der Schizophrenie wahrscheinlich als Konsequenz einer komplizierten Wechselwirkung der genetischen Veranlagung und der Umweltfaktoren betrachtet werden die eine Modifikation der Entwicklung der Verschaltungen zwischen den neuronalen Kreisen bewirkt (Harrison and Weinberger, 2005; Lewis, 2002; Lewis and Levitt, 2002).

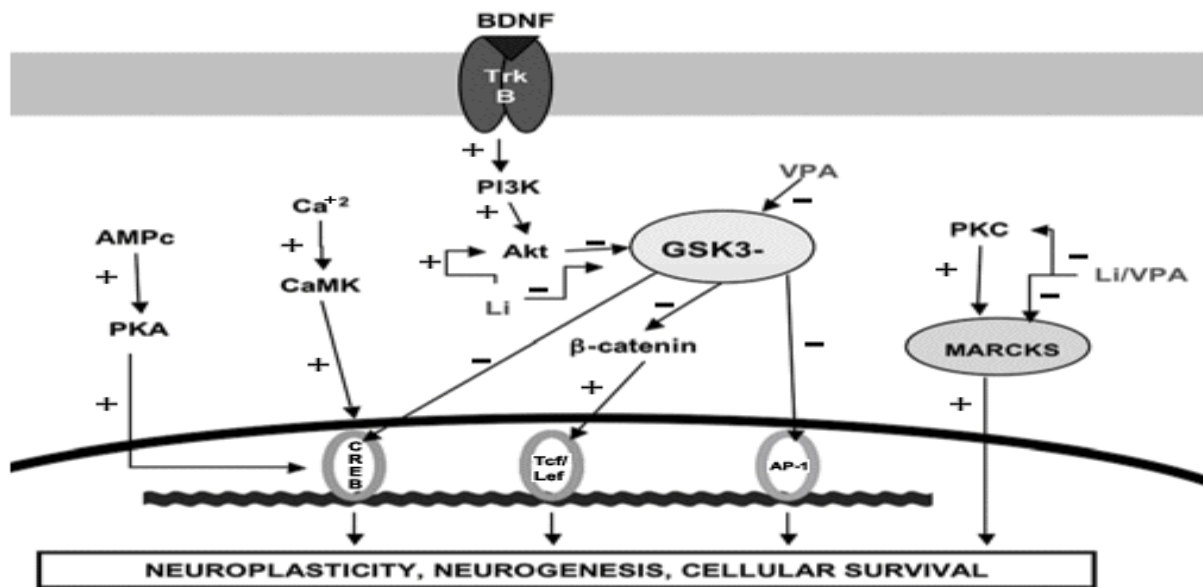
Die in der Plastizität des Kortex involvierten Neurotransmittermechanismen bei der Schizophrenie sind gestört, dies konnte in zahlreichen Studien gezeigt werden.

Es wird angenommen, dass die gestörte Neuroplastizität eine kausale Folge einer Änderung dieser Neurotransmittermechanismen sein kann. Genetische und Post-Mortem Studien konnten Abweichungen in an der synaptischen Plastizität involvierten Proteinen (Dysbindin, Neuregulin und Reelin) zeigen. Diese gelten als potentiell

an der Pathologie der Schizophrenie beteiligt (Stefansson et al., 2003; Straub et al., 2002; Fatemi et al., 2000; Weeber et al., 2002). Es wird vermutet, dass die Störungen in diesen Mechanismen Verantwortung dafür tragen, dass sich Änderungen in der neuronalen Konnektivität entweder auf einer zellularen Ebene oder auf einer Netzwerkebene ergeben. Die angegebenen Daten belegen, dass Schizophrenie eine Erkrankung ist die mit Störungen in den neuralen Prozessen, die der neuraler Plastizität unterliegen, verbunden sind.

Mehrere neurobiologische Mechanismen haben gezeigt, dass sie eine Rolle bei der neuronalen Plastizität spielen. Bestrebungen seitens der Forschung zur Erläuterung dieser pathologischen Mechanismen in der Schizophrenie, führten zu einer Suche nach extra- und intrazellulären molekularen Mediatoren. Ein potentieller extrazellulärer Mediator ist das sekretierte Neurotrophin, der sogenannte „*Brain Derived Neurotrophic Factor*“ (BDNF). BDNF spielt eine Rolle bei der Entwicklung des Gehirns (Chen et al., 2008). BDNF hat einen Einfluss auf die aktivitätsabhängige synaptische Plastizität und die Langzeitpotenzierung (Laske and Eschweiler, 2006). Dies sind alles entscheidende Prozesse beim Lernen und beim Gedächtnis. Diese Prozesse erfolgen durch eine komplexe Reihe von intrazellulären Signalwegen wie dem Phosphatidylinositide 3-Kinase (PI3K)-Akt-Signalweg und dem mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK)-Signalweg (Chen et al., 2009). Beide Signalwege, wie andere zahlreiche dem neuronalen Überleben fördernden Signalwege, laufen in dem Transkriptionsregulator CREB1 zusammen (Shaywitz and Greenberg, 1999; Malberg and Blendy, 2005; Tardito et al., 2006; Gass and Riva, 2007). Abbildung 1.1 zeigt eine Übersicht der intrazellulären Signalwege in der Interaktion zwischen BDNF und CREB1. Von Conti und Segal durchgeführte Studien konnten den Zusammenhang zwischen Abhängigkeit der BDNF-Transkription von der CREB1-Phosphorylierung zeigen (Conti et al., 2002; Segal, 2003).





**Abb. 1.1: Übersicht der involvierten Signalwegen in der Interaktion zwischen BDNF und CREB1.**

Im neuronalen Zellkern befindet sich der Transkriptionsregulator CREB1 normalerweise in inaktiver Form. Es wird durch verschiedene Proteinkinasen aktiviert. Der Phosphatidylinositide 3-kinase (PI3K)-Akt-Signalweg gehört u. a. zu den von BDNF beeinflussten Signalwegen, die eine Aktivierung von CREB1 bewirken. Anschließend bindet CREB1 an Promoterregionen von Zielgenen, die Proteine exprimieren, die in Prozesse wie Neuroplastizität, Neurogenese und neuronales Überleben beteiligt sind (Frey et al., 2004; Copyright: <http://www.scielo.br/scielo.php> <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.en>).

Studien konnten zeigen, dass eine einzige Substitution (Val->Met) bei dem Codon 66 in dem kodierenden Bereich für das pro-BDNF-Protein mit einem ineffizienten Transport, einer reduzierten aktivitätsabhängigen Freisetzung des BDNFs und einem beeinträchtigten hippocampusvermittelten Gedächtnis assoziiert ist (Chen et al., 2004; Egan et al., 2003; Ho et al., 2006; Hariri et al., 2003; Pezawas et al., 2004; Dempster et al., 2005). In einigen von mehreren Forschungsgruppen durchgeführten MRT-Studien konnte festgestellt werden, dass Met-Allelträger, die an Schizophrenie erkrankt sind, ein verringertes Volumen in der frontalen und temporalen grauen Substanz im Vergleich zu Val-Allelträger aufweisen (Ho et al., 2006; Szeszko et al., 2005; Agartz et al., 2006). Zudem fanden die Forschungsgruppen um Hashimoto und Weickert eine Reduktion der Expression der mRNA (Boten-Ribonukleinsäure) von BDNF in der DLPFC bei an Schizophrenie Erkrankten (Hashimoto et al., 2005; Weickert et al., 2003). Hill et al. fanden, dass die BDNF-mRNA-Werte und die Dichte dendritischer *Spines* zusätzlich in basilaren Dendriten pyramidalen Neurone eine positive Korrelation in den gleichen Individuen mit Schizophrenie zeigten (Hill et al.,

2005). Dies ist insofern von Belang aufgrund der zahlreichen Evidenz, dass Veränderungen in der Genexpression des BDNFs durch die Aktivierung/Phosphorylation vom CREB1 entstehen können.

Dopamin ist ein Neurotransmitter, der eine wichtige Rolle im Prozess der Neuroplastizität spielt. Neben den Störungen in der exzitatorischen und inhibitorischen Konnektivität des DLPFC, wurden auch Störungen in modulatorischen Systemen, wie dem dopaminergen System, bei an Schizophrenie erkrankten Patienten berichtet. Die positiven und negativen Symptome der Erkrankung wurden ursprünglich auf eine exzessive Funktion der dopaminergen Neurotransmission zurückgeführt (Lewis and Gonzalez-Burgos, 2008). Carlsson stellte eine ausgeprägte Korrelation der Wirksamkeit klassischer Neuroleptika bei den positiven Symptomen der Schizophrenie mit ihrer Potenz in Dopaminrezeptoren (D2) in subkortikalen Strukturen fest (Carlsson, 2006).

Eine große Vielfalt an funktionalen und positionalen Genkandidaten wurde in den letzten Jahren evaluiert (Lang et al., 2007). Genen wie z.B. AKT1, BDNF, NRG1, RELN und DISC1 konnten bereits in mehreren Studien zeigen, dass sie in der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt sind (Schmidt-Kastner et al., 2006). Die im Jahr 2014 veröffentlichte bislang größte genomweiten Assoziationsstudie der Schizophrenie (36989 Patienten und 113075 gesunden Kontrollprobanden) identifizierte 108 Loci, die eine genomweite signifikante Assoziation mit der Schizophrenie zeigten. Die berichteten Assoziationen wurden v.a. bei Genen festgestellt, die im Gehirn exprimiert werden, wie z.B. DRD2, sowie bei solchen Genen, die bei glutamaterger Transmission und synaptischer Plastizität eine Rolle spielen (z.B. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1) (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

*cAMP response element binding protein* (CREB1), ein in der intrazellulären Signaltransduktion involviertes Molekül, ist ein weiteres Gen, das aufgrund seines Einflusses auf die Neuroplastizität als Kandidatengen für die Schizophrenie untersucht wurde. CREB1 ist ein Transkriptionsfaktor, der in 2 großen Genexpressionskaskaden, die die neuronale Funktion regulieren, involviert ist. Im ersten Pfad erscheint CREB1 als ein kritisches Mitglied eines molekularen Mechanismus, der die Langzeitformen neuronaler Plastizität und Lernen kontrolliert. Im zweiten Pfad spielt

CREB1 eine wesentliche Rolle beim neuronalen Überleben und in der Neuroprotektion (Jancic et al., 2009).

CREB1 ist darüber hinaus eines der in die intrazelluläre Signaltransduktion involvierten Botenmoleküle, die, von verschiedenen Dopamin- und Serotoninrezeptorsubtypen, benutzt wird (Kawanishi et al., 1999); beide Rezeptorsubtypen sind Mitglieder von Neurotransmittersystemen, deren Beteiligung in der Pathophysiologie der Schizophrenie diskutiert wird.

In dem Sinne ist CREB1 ein wichtiger Akteur in den Prozessen die an der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt sind. Zudem stimuliert CREB1 die Transkription einer Vielzahl von Genen (Dopamin D1 Rezeptor, Serotonintransporter, Tyrosinhydroxylase, Synapsin), die bereits in Verbindung mit der Schizophrenie gebracht worden sind (Meyer and Habener, 1993; Montminy, 1997). Kawanishi et al. fanden in einer Studie an einer japanischen Population zwei Polymorphismen vom CREB1-Gen, die bei schizophrenen Patienten häufiger gefunden werden als bei gesunden Kontrollen (Kawanishi et al., 1999). Ma et al. analysierten in einer großen Population 62 SNPs in Genen, die in 6 verschiedenen CREB1-Signaltransduktionswegen involviert sind. Die Ergebnisse zeigten eine Assoziation von zwei SNPs mit der Schizophrenie (Ma et al., 2014).

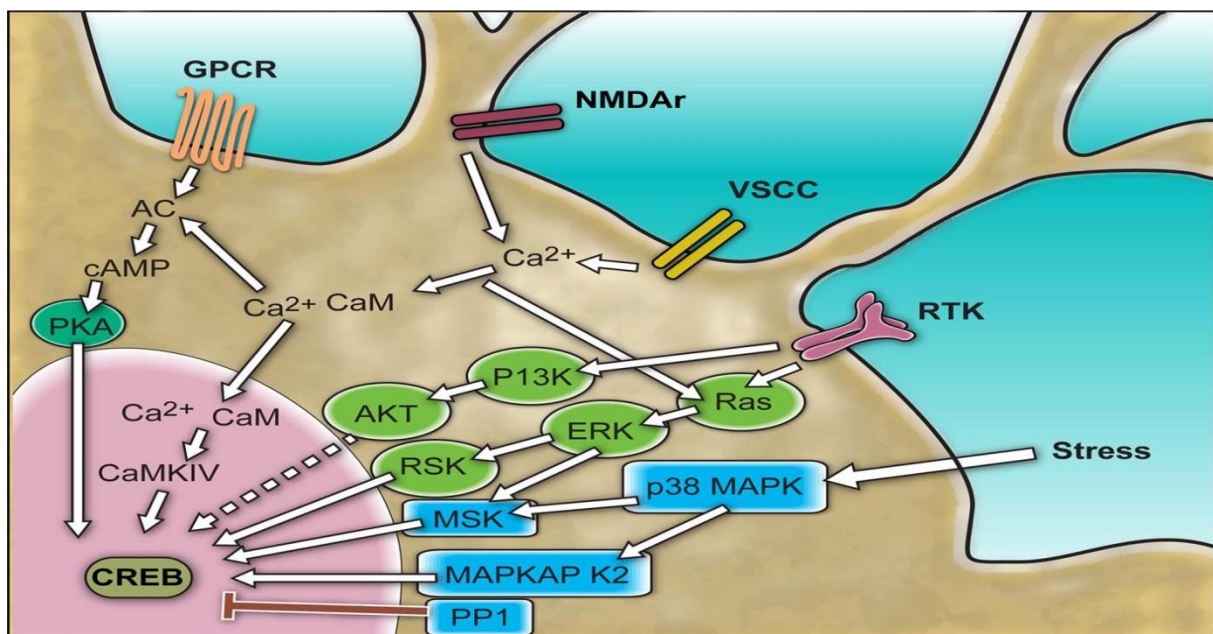
## 1.4 cAMP response element binding protein (CREB1)

Ende der 80er Jahre wurde entdeckt, dass das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) die hormonelle Stimulation etlicher zellulären Prozessen durch die Regulation der Phosphorylierung kritischer Proteine steuert. Unter diesen befindet sich der Transkriptionsfaktor CREB1 (Montminy et al., 1990). Alberini fand heraus, dass die Regulation der Aktivität von DNA-bindenden Proteinen (Transkriptionsfaktoren), die mit bestimmten DNA-bindenden Elementen in den Promotor-Regionen von Genen interagieren, und dabei ihre Transkription aktivieren oder unterdrücken können, eine wichtige Funktion der Proteinkinasen und Phosphatasen ist (Alberini, 2009).

CREB1 (cAMP response element binding protein) ist ein Transkriptionsfaktor, der die cAMP-abhängige Genexpression über das Binden an *cAMP-Response-Elemente* (CRE) verschiedener Gene reguliert. Das CREB1-Gen wurde auf Chromosom 2 (2q32.3-q34) lokalisiert (Taylor et al., 1990). Die Expression des *Brain Derived*

*Neurotrophic Factors* (BDNF) wird durch CREB1 reguliert. CREB1 wird über die cAMP-Kaskade, über Kalzium abhängige Proteinkinasen oder über einen dritten Weg phosphoryliert und damit aktiviert. Daraus ergibt sich eine vermehrte Expression verschiedener Gene (Thome et al., 2000).

Silva et al. stellten fest, dass der Transkriptionsfaktor CREB1 ein Bestandteil der intrazellulären Signaltransduktionskaskade ist, welche eine Vielzahl von biologischen Funktionen regulieren. Diese reichen von der Spermatogenese, über zirkadianische Rhythmen bis hin zum Gedächtnis (Silva et al., 1998). Auf diese Weise ist CREB1 ein zentraler Regulator, der verschiedene Stimuli integrieren kann (Abbildung 1.2).



**Abb. 1.2: Übersicht der Signalwege, die in CREB1 zusammenlaufen (Lonze und Ginty, 2002).**

Exzitatorische Neurotransmitter, Liganden für G-Protein-Gekoppelte-Rezeptoren, neuronale Wachstumsfaktoren und Stress Induktoren sind unter den Stimuli, die die Signalwege aktivieren, die in CREB1 zusammenlaufen. Multiple Stimuli-abhängige Proteinkinasen werden als CREB1-Kinasen in Neuronen in Verbindung gebracht und zwischen diesen Signalwegen existiert ein hoher Grad an *Crosstalk* (Interaktion zwischen verschiedenen Transkriptionsfaktoren). Abk. GPCR: G-Protein-gekoppelter Rezeptor; NMDAR: NMDA (*N-Methyl-D-Aspartat*) –Rezeptor; VSCC: *Voltage Sensitive Calcium –Channel*; RTK: Rezeptor-Tyrosinkinase; PKA: cAMP-protein kinase A; AKT: *Serin/Threonin*-Kinase; P13K: *Phosphatidylinositol* 3-Kinase; RSK: *Ribosomal S6* Kinase; ERK: Extracellular Signal-Regulated Kinase; Ras: Rat sarcoma (Proto-Onkogen, das für ein sogenanntes kleines G-Protein codiert); MSK: Mitogen- and Stress-activated Protein Kinase; p38 MAPK: p38-mitogenaktivierte Proteinkinase; MAPKAP K2: Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinase 2 ; PP1: Proteinphosphatase 1.

### 1.4.1 CREB1 Familie von Transkriptionsfaktoren

CREB1 (*cAMP response element binding protein*) gehört zur bZIP (*basic region-leucine zipper*) Superfamilie von Transkriptionsfaktoren. Innerhalb dieser Superfamilie bildet CREB1 und die eng verwandten Faktoren CREM (*cAMP response element modulator*) und ATF-1 (*activating transcription factor 1*) eine Unterrubrik, die als CREB1 Familie bezeichnet wird. Während CREB1 und ATF-1 ubiquitär exprimierte Proteine sind, überwiegt CREM hauptsächlich im neuroendokrinen System.

Lonze und Ginty stellten fest, dass, wie etliche bZIP Transkriptionsfaktoren, die Mitglieder der CREB1 Familie eine C-terminale Domäne zeigen, welche die DNA bindet und eine Leucine-Zipper-Domäne, die die Dimerisierung begünstigt (Lonze and Ginty, 2002).

Lonze und Ginty fanden heraus, dass bZIP Domänen die Bindung zu spezifischen regulatorischen Sequenzen steuern, während der Rest des Proteins für die transkriptionale Domäne zuständig ist. Die bZIP Domäne ist dann für die DNA Bindung und Dimerisierung verantwortlich. Der Schritt der Dimerisierung ist entscheidend und hängt von der Phosphorylierung des Serinrestes an Position 133 ab. Nach seiner Dimerisierung im Zellkern wird CREB1 aus dem Zellkern transportiert und bindet das cis-Element, das sogenannte *cAMP response element* (CRE), welches aus spezifischen Nukleotid-Sequenzen (palindromische octanukleotide Sequenzen TGACGTCA) besteht (Lonze and Ginty, 2002).

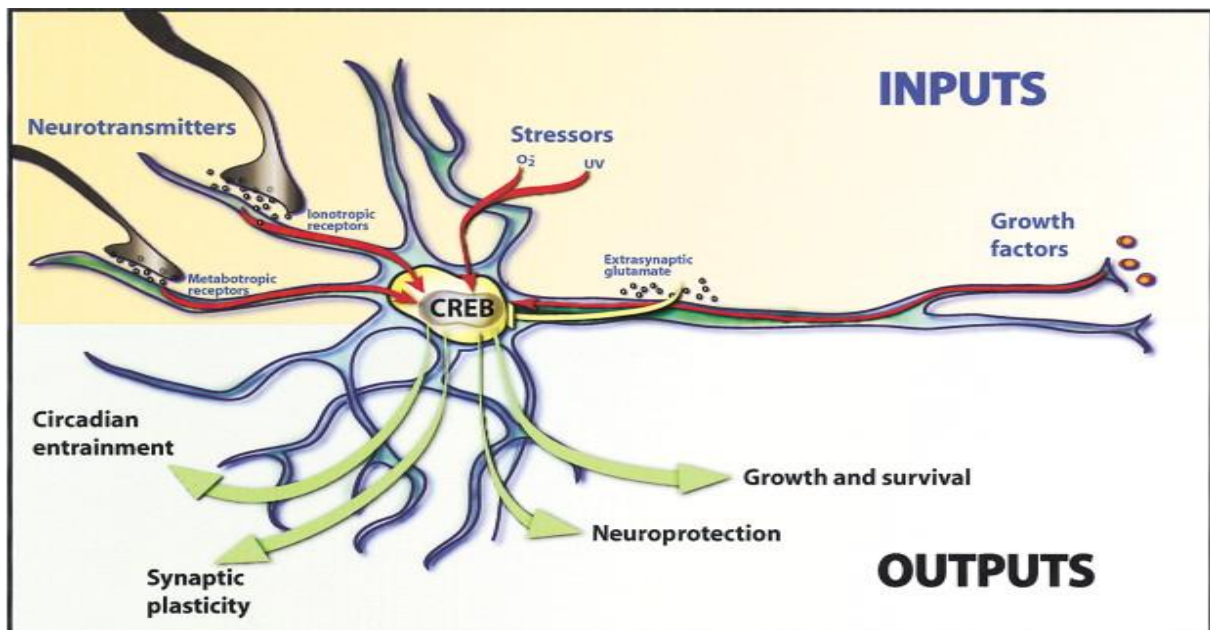
Lonze und Ginty stellten zudem fest, dass die restlichen Mitglieder der CREB1 Familie der Optimierung der Interaktion mit Co-Aktivatoren und Komponenten der Transkriptionsmaschinerie dienen, die letztendlich die RNA-Synthese durchführen, und das neuronale Überleben, Wachstum und Plastizität von der Entwicklung bis in das Erwachsenenalter durchgehend stützen (Lonze and Ginty, 2002).

Die Proteine der bZIP Familie werden als Dimere an die DNA gebunden. Dies erfolgt durch die Bindung der Dimeren an Aminosäuresequenzen, die dann direkt an die DNA angebunden werden. Die Sequenz jeder bZIP Domäne entscheidet, ob diese Proteine Homodimere oder Heterodimere bilden. Die Heterodimerisation kann zwischen CREB1-Familienmitgliedern, aber auch mit anderen bZIP-Transkriptionsfaktoren wie z.B. C/EBPs, Fos und Jun Proteine, entstehen. Dies ist

relevant, weil dadurch eine große Erweiterung des Repertoires und der Vielfalt in der Regulation von Zielgenen erreicht wird (Lonze and Ginty, 2002).

### 1.4.2 CREB1 Funktion

CREB1 wird von einem großen Spektrum physiologischer Stimuli aktiviert (siehe Abbildung 1.3). Während die meisten unmittelbaren Konsequenzen dieser Aktivierung die Transkription neuer Gene sind, wird deutlich, dass diese Vielfalt von Stimuli eine vielfältige Palette zellulärer Reaktionen hervorruft (Lonze and Ginty, 2002).



**Abb. 1.3: CREB1-Abhängige Genexpression und ihre Rolle bei der Entwicklung und Reifung des zentralen Nervensystems.**

In der Abbildung sind einige der Prozesse dargestellt, die mit der CREB-Abhängigen Genexpression in Verbindung gebracht worden sind (Lonze und Ginty, 2002).

### 1.4.3 CREB1 in der Entwicklung des Nervensystems

Innerhalb des Nervensystems regulieren Wachstumsfaktoren und andere Stimuli eine umfangreiche Vielfalt von Prozessen wie die Proliferation neuronaler Vorläufer und Wachstum, Überleben und die synaptische Verbindung von Neuronen in der Entwicklungsphase. Lonze und Ginty beobachteten, dass etliche, in solchen Prozessen involvierten Stimuli, die Fähigkeit besitzen, Signale in den Zellkern zu senden und somit die Genexpression zu beeinflussen. Die unter anderem von der Forschungsgruppe um Lonze und Ginty festgestellte Beobachtung, dass die CREB1-Phosphorylierung und die CRE-abhängige Genexpression als Reaktion auf

Mitogene, Neurotrophine und andere Wachstumsfaktoren auftreten, führte zur Erforschung der möglichen Rolle dieses spezifischen Faktors bei diesen zentralen Entwicklungsprozessen (Lonze and Ginty, 2002).

Lonze und Ginty konnten bei transgenen CREB1-*Knockout*-Mäusen Wachstumsstörungen im Corpus callosum, in der Commissura rostralis, in peripheren Nerven und Hirnnerven sowie in sympathischen Ganglien beobachten. Des Weiteren stellten sie in den sensorischen Neuronen der dorsalen Wurzel und in dem Trigeminalganglion eine übermäßige Apoptose fest. In Mäusen mit einer Deletion von CREB1 und CREM, konnte während der Entwicklung des zentralen Nervensystems ein massiver Verlust von Neuronen in mehreren Gehirnbereichen, einschließlich der Cortex, Hippocampus und Striatum beobachtet werden (Lonze and Ginty, 2002). Von Bonni und Riccio durchgeführte Studien, in denen die Mitglieder der CREB1-Familie in Neuronen *in vitro* gehemmt wurden, suggerieren, dass die CREB1-abhängige Genexpression notwendig und ausreichend für das Überleben multipler neuronaler Subtypen ist (Lonze and Ginty, 2002). Genetische Studien mit CREB1-*Knock-out*-Mäusen (Rudolph et al., 1998), haben diese Befunde unterstützt und CREB1 als Voraussetzung *per se* für das Überleben von sensorischen Neuronen des dorsalen Wurzelganglion *in vivo* und von den sympathischen Neuronen *in vitro* belegt (Lonze et al., 2002).

Im zentralen Nervensystem scheinen die Voraussetzungen für die Überlebensfähigkeit von Neuronen nicht nur vom CREB1 abhängig zu sein. Mantamadiotis et al. untersuchten die Überlebensfähigkeit von Neuronen in Mäusen, deren CREB-1-Funktion spezifisch in einer räumlichen und zeitlichen Weise zertrennt werden konnte (Lonze et al., 2002). Die alleinige Eliminierung von CREB1 in den Nervenzellen und in den Gliazellen zeigte, dass weder die Überlebensfähigkeit von Neuronen noch die Integrität des zentralen Nervensystems gefährdet ist. Dagegen treten, wenn im gleichen Zelltyp auch noch CREM eliminiert wird, perinatale Letalität und ein ausgeprägter Neuronenverlust in etlichen Bereichen des zentralen Nervensystems auf. Der neuronale Verlust ist nicht die Konsequenz proliferativer Störungen, sondern eher das Resultat einer Erhöhung der Apoptose, die in der Mitte der Gestation beginnt. Weiterhin zeigte sich bei einer postnatalen Eliminierung von CREB1, bei gleichzeitiger Eliminierung von CREM im gleichen Zelltyp, eine stark ausgeprägte progressive Degeneration des zentralen Nervensystems, die Bereiche wie der Cortex, der

Hippocampus und das Corpus striatum betrifft. Lonze und Ginty kamen zur Schlussfolgerung, dass diese Studien die Vermutung nahelegen, dass CREB1 und CREM individuell für die allgemeine Festlegung und frühe Bildung des zentralen Nervensystems entbehrlich sind. Die Anwesenheit mindestens eines von beiden ist allerdings essenziell für die Überlebensfähigkeit von Neuronen in der späten embryonalen Phase, aber auch in der postnatalen Phase (Lonze et al., 2002).

#### **1.4.4 CREB1, Proliferation und Neuronale Differentiation**

In wie weit die Mitglieder der CREB1-Familie im zentralen Nervensystem für die Entwicklungsprozesse, vom neuronalen Überleben abgesehen, erforderlich sind, ist immer noch unklar. Studien *in vivo* und *in vitro* an sensorischen Neuronen, die von CREB1-*Knock out* Mäusen stammten, zeigten eine Störung des axonalen Wachstums in Abwesenheit von CREB1; diese Wachstumsstörungen traten unabhängig von neuronalen Überlebensdefiziten auf (Lonze et al., 2002). Bei CREB1-*Knock out* Mäusen wurden Störungen in axonalen Projektionen innerhalb von mindestens zwei Commissuren des Großhirns festgestellt. Überdies korreliert die CREB1-Aktivierung mit axon-induzierten Proliferationsstörungen von Schwann-Zellen während der Entwicklung des zentralen Nervensystems (Lonze et al., 2002).

#### **1.4.5 CREB1, Lernen, Gedächtnis und Plastizität**

Lonze und Ginty berichteten, dass mehrere Verhaltensstudien, durch die Anwendung pharmakologischer Inhibitoren, zeigen konnten: die Synthese neuer Proteine und die Transkription von Genen sind die Voraussetzungen für die Entstehung des Langzeitgedächtnisses. Weitere von Lonze und Ginty zitierte Studien fanden heraus, dass diese Voraussetzungen auch für die langfristigen Veränderungen der synaptischen Plastizität (die zellulären Korrelate für Gedächtnis) unentbehrlich sind. Spezifische Moleküle zu identifizieren, die in Prozessen wie Lernen, Gedächtnis und Plastizität beteiligt sind, sowie die Entwicklung von Instrumenten zu deren Manipulation, ist ein großer Fortschritt zum Verständnis dieser Phänomene.

Eine Reihe von Kandel und Montarolo durchgeführte Studien wurden unter Verwendung von *Aplysia*, einer Riesenmeeresschnecke, durchgeführt. *Aplysia* zeigt ein ähnliches Gedächtnisphänomen, die sogenannte Sensitivierung, welches im Prinzip der synaptischen Plastizität im Hippocampus ähnelt (Lonze and Ginty, 2002). Dieses



System lieferte die ersten mechanistischen Erkenntnisse über die Rolle der aktivitätsabhängigen Genexpression beim Lernen und beim Gedächtnis, bei dem der cAMP-CREB1-Pfad als deren Voraussetzung festgestellt wurde. Weiterhin diene dieses System als Wegbereiter für weitere Studien, die die Unentbehrlichkeit des CREB1-abhängigen Transkriptionspfades für die langfristige Gedächtnisbildung zeigen konnten (Lonze and Ginty, 2002).

In der Tat wurde in einer von Pham et al. durchgeführte Studie eine starke CREB1-Phosphorylierung und CRE-Reporter-regulierte Genexpression in kortikalen Nervenzellen während der Entwicklung der Plastizität nachgewiesen (Lonze and Ginty, 2002). Dieser Nachweis erfolgte, ebenfalls in Neuronen des Hippocampus, als Antwort für Langzeitgedächtnis-induzierende Stimuli und *Memory Training Tasks*. CREB1-abhängige Genexpression scheint eher eine Voraussetzung als das Resultat von Lernen und Gedächtnis zu sein. Die Injektion von CREB1-Antisense-Oligonukleotiden in den Hippocampus verursacht Störungen des räumlichen Lernens bei Ratten (Lonze and Ginty, 2002). In ähnlichen Studien wurde über die Notwendigkeit des CREB1-*Signaling* für Plastizität in einem *in vitro* Modell zerebellärer LTD berichtet. Ferner haben Kandel et al. herausgefunden, dass eine induzierbare Expression eines dominanten Inhibitors der ganzen CREB1-Familiemitgliedern im dorsalen Hippocampus räumliche Gedächtnisstörungen mit sich bringt. Kandel et al. betrachten die CREB1-Aktivierung als das zentral-aktivierende Ereignis, das auf einen Langzeitgedächtnis-induzierenden Stimulus folgt (Lonze and Ginty, 2002). Diese Befunde bekräftigen ein Modell, bei dem die CREB1-abhängige Genexpression ein kritischer Beitrag für das Langzeitgedächtnis und die Plastizität in Wirbeltieren liefert (Lonze and Ginty, 2002).

#### **1.4.6 CREB1 und Neuroprotektion**

In einer von Lonze und Ginty publizierte Studie berichteten die Forscher, dass CREB1 nicht nur als Antwort auf Stimuli aktiviert wird, die das Wachstum und die Überlebensfähigkeit der Neuronen fördern, sondern auch als Reaktion auf Stimuli, die mit Stress verbunden sind. In Nervenzellen wird CREB1, so die Forscher um Lonze, unter Sauerstoffmangel und oxidativem Stress dephosphoryliert. Dies suggeriert die Aktivierung eines CREB1-abhängigen Überlebensprogramms als Reaktion

auf schädliche Stimuli und stellt einen zellulären Schutzmechanismus dar (Lonze and Ginty, 2002).

Weiterhin berichtete die Forschungsgruppe um Lonze, dass die funktionale Relevanz der CREB1-Aktivierung als Stressreaktion auf der Beobachtung basiert, dass die differentiale Empfindlichkeit auf hypoxieinduzierten Zelltod in einigen Zelltypen mit der Fähigkeit, die CREB1-Phosphorylierung aufrecht zu erhalten, korreliert. Aus einer temporären Ischämie im Hippocampus resultiert eine CREB1-Phosphorylierung, die in CA1-Neuronen vorübergehend, im Gyrus dentatus aber anhaltend ist (Lonze and Ginty, 2002). Während die CA1-Neuronen nach einem ischämischen Insult dramatisch reduziert sind, bleiben Dentatus-Neuronen weitgehend unbeschädigt, dies führte bei Lonze et al. zur Annahme einer direkten CREB1-abhängigen Neuroprotektion im Gyrus dentatus. Die Neuroprotektion scheint die CREB1-abhängigen Genexpression zu fordern, da die Injektion von CRE-bindenden-Oligonukleotiden (Moleküle, die CRE binden und dadurch die Gentranskription inhibieren) den durch exzitotoxische Stimuli bedingten Zelltod verschärft. Darüber hinaus, berichteten Lonze und Ginty über zahlreiche Studien, die zeigen konnten, dass die CREB1-Phosphorylierung im regulatorischen transkriptionellen Ser133-Bereich, in dem CREB1 phosphoryliert wird welcher in Neuronen ein sehr wichtiger Mechanismus ischämischer Toleranz ist (Lonze and Ginty, 2002).

#### **1.4.7 CREB1 und psychiatrische Krankheiten**

Das *cyclic AMP response element binding protein* (CREB1) spielt eine zentrale Rolle bei intrazellulären Signaltransduktionskaskaden, die nicht nur für das zelluläre Überleben, sondern auch für eine Vielzahl physiologischer Prozesse von Bedeutung sind (Lonze and Ginty, 2002). Lonze und Ginty gehen aus diesem Grund davon aus, dass die Konsequenzen einer gestörten Funktion der CREB1-Gene *in vivo* ziemlich weitreichend sind. Einige dieser pathologischen Veränderungen sind genetische Krankheiten mit Beteiligung gestörter CREB1-Interaktoren. Das für RSK-2 (Ribosomal 6 Kinase-2) kodierende Gen, eine der vielen putativen CREB1-Kinasen, ist bei dem Coffin-Lowry-Syndrom pathologisch verändert. Hierbei handelt es sich um eine komplexe Störung, die durch multiple physische Anomalien und mentale Retardierung charakterisiert wird (Lonze and Ginty, 2002). Darüber hinaus resultiert aus der heterozygoten Mutation in den CBP-Genen (CREB1-Binding-Protein-Gene) das Ru-

benstein-Taybi-Syndrom. Dieses wird durch multiple Störungen und mentale Retardierung charakterisiert (Lonze and Ginty, 2002).

Der Mechanismus bei dem die Störung der CREB1-Funktion eine Krankheit hervorruft, ist zumeist wenig nachvollziehbar. Eine bemerkenswerte Ausnahme ist der Morbus Huntington, die Erkrankung geht mit schwerwiegenden-Interaktoren zwischen CBP, P/CAF, und TAF<sub>II</sub>130 einher welches eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie der Huntington Krankheit spielt (Dawson and Ginty, 2002). Im Besonderen haben etliche unabhängige Forschungsgruppen herausgefunden, dass das mutierte Huntingtin Protein (der kausative Akteur in einigen Formen von Morbus Huntington) durch seinen expandierten Polyglutamin- Trakt CBP-enthaltende nukleare Aggregate bildet (Lonze and Ginty, 2002).

Bei Suchtverhalten, wie bei den Prozessen des Lernens und des Gedächtnisses, spielt die Aktivierung neuer Transkriptionsgene eine wichtige Rolle. Demzufolge ist Suchtverhalten ein Prozess, der mit CREB1 und CREB1-abhängiger Genexpression in einigen Studien in Verbindung gebracht worden ist (Lonze and Ginty, 2002). Belegte Evidenz spricht dafür, dass CREB1 in Zusammenhang mit den neuronalen Langzeitveränderungen steht, welche mit der Sucht assoziiert sind. Die ersten Studien aus dieser Forschungsrichtung beschrieben ausschließlich die Charakterisierung der CREB1-Expression und –Aktivierung im Gehirn als Antwort auf Substanzenmissbrauch (Lonze and Ginty, 2002). Die Forschungsgruppe um Lonze und Ginty berichtete, Studien haben gezeigt, dass CREB1-Phosphorylierung und CRE-vermittelte Genexpression in ZNS-Regionen (Locus coeruleus und Nucleus accumbens), die im Suchtprozess involviert sind, stark in Abhängigkeit von der Exposition von Substanzen wie Opiaten, Kokain, Amphetamine, Nikotin und Ethanol variierte (Lonze and Ginty, 2002).

Den CREB1-abhängigen Transduktionssignalen wird auch eine Rolle bei der Pathogenese der Alzheimer Demenz zugeschrieben. Aus zahlreichen Studien geht hervor, dass ein verringerter Level an Adenylcyclase eine reduzierte cAMP-Synthese und eine gestörte CREB1-Aktivität im Hippocampus hervorruft. Diese Veränderungen wurden ausschließlich in den Gehirnen von Patienten mit Alzheimer Demenz gefunden (Lonze and Ginty, 2002).

Depression und Angst sind weitere Krankheiten die mit einer gestörte CREB1-Funktion in Verbindung gebracht wurde. In zahlreichen Studien, die sich an Verhal-

tensmodellen orientieren, wurde die Beteiligung von CREB1 in der Ätiologie von Depression und Angst hervorgehoben (Lonze and Ginty, 2002). In Studien bei an *early-onset Major Depression* erkrankten Frauen in 81 Familien fanden Zubenko et al. Variationssequenzen im Promoter des CREB1-Gens, die mit und ohne Affektive Störungen einhergingen. Dieser Befund kennzeichnet das CREB1-Gen als ein potentielles, geschlechtsabhängiges, Suszeptibilitätsgen für Affektive Störungen, und liefert Hinweise für eine Beteiligung des cAMP-Signaltransduktionspfades in der Pathophysiologie der Affektiven Störungen. Weitere Studien zeigten eine Assoziation zwischen der Aktivität der CREB1-abhängigen Genexpression, der antidepressiven Response (Chen et al., 2001; Lai et al., 2003; Blendy, 2006; Iga et al., 2007; Wilkie et al., 2007) und dem Suizid (Dwivedi et al., 2003). Perlis et al. fanden heraus, dass bei Patienten mit Major Depression eine geschlechtsspezifische Assoziation von CREB1 mit der Expression von Angst und mit dem Auftreten von Suizidalität unter antidepressiver pharmakologischer Therapie besteht (Lonze and Ginty, 2002).

#### 1.4.8 CREB1 und Schizophrenie

Die Forschungsgruppe um Kawanishi untersuchte in Bezug auf die Schizophrenie Variationen in der Promoterregion der humanen CREB1-Gens, deren Varianten eine Rolle bei der Ätiopathogenese der Schizophrenie haben könnten (Kawanishi et al., 1999). Kawanishi et al. rekrutierten 80 Schizophrenie Erkrankte sowie 100 gesunde Probanden. Alle Teilnehmer waren japanischer Ethnizität und nicht miteinander verwandt. Die Studie zeigte eine Assoziation zwischen zwei neue Varianten -933T->C und -413G->A in der Promotorregion des CREB1-Gen mit Schizophrenie. Jede dieser Varianten lag bei jeweils einem Patienten in heterozygoter Form vor. Keine der Varianten konnte in der Kontrollgruppe identifiziert werden (Kawanishi et al., 1999).

Die Forschungsgruppe um Crisafulli untersuchte eine mögliche Assoziation zwischen Einzelnukleotid-Polymorphismen der CREB1-Gen-Familie (CREB1 rs2709377, rs6740584; CREBBP rs2239317, rs2239316, rs3025702, rs130021, rs130005, rs129974, rs9392; CREM rs1148247, rs4934735, rs12775799, rs6481941, rs16935888) und Schizophrenie beziehungsweise, ob sie als Prädiktoren für den weiteren klinischen Verlauf bei koreanischen Patienten unter neuroleptischen Behandlung dienen könnten. 221 an Schizophrenie Erkrankte und 170 psychiatrisch gesunde Kontrollen wurden für 10 SNPs innerhalb von CREB1, CREB-BP und

CREM genotypisiert. Crisafulli et al. konnten keinen Einfluss der untersuchten SNPs in Bezug auf die Prädisposition, an Schizophrenie zu erkranken, finden (Crisafulli et al., 2012).

Im Jahr 2014 publizierten Ma et al. die Ergebnisse ihrer Studie über CREB1 und Schizophrenie. Die Forschungsgruppe um Ma analysierten in einer großen Population (2019 Han Chinesen, davon 976 schizophrene Patienten und 1043 gesunde Probanden) 62 SNPs in Genen, die in 6 verschiedenen CREB1-Signaltransduktionswegen involviert sind. Die Ergebnisse zeigten eine Assoziation von zwei SNPs (rs4379857,  $P = 0.009$ ; rs2238751,  $P = 0.023$ ) mit der Schizophrenie. Die Ergebnisse konnten jedoch nach Korrigieren für multiples Testen nicht bestätigt werden. Ma et al. berichteten, dass die Studie eine erhebliche Populations-Heterogenität in der genetischen Prädisposition für Schizophrenie zeigt (Ma et al., 2014).

In den bis dato publizierten genomeweiten Assoziationsstudien wurde CREB1 unter den genomweit signifikanten Assoziationen nicht gefunden (Lencz et al., 2007; Stefansson et al., 2008; Kirov et al., 2008; O'Donovan et al., 2008; Walsh et al., 2008; Ng et al., 2009; Need et al., 2009; Stefansson et al., 2009; ISC et al., 2009; Shi et al., 2009; Kirov et al., 2009; Shi et al., 2011; Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium 2011; Yue et al., 2011; Tang et al., 2011; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014). Dies schließt jedoch nicht aus, dass es sich um einen mit Schizophrenie assoziierten Faktor handelt, da einerseits die Anzahl der unterschwellig signifikanten Assoziationen überzufällig hoch ist und andererseits Power der aktuell größten Stichprobe noch nicht ausreicht, um alle zur Schizophrenie beitragenden Variationen zu detektieren (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014).

## 2 Fragestellung

Neurobiologische Veränderungen, beziehungsweise genetische Vulnerabilität und Umweltfaktoren gelten derzeit als entscheidende Komponenten in der Ätiopathogenese der Schizophrenie. Wie diese Faktoren interagieren und schließlich zum Ausbruch der Schizophrenie führen, ist jedoch noch nicht geklärt.

Die Schizophrenie ist durch neurokognitive Defizite über verschiedene kognitive Domänen hinweg (Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Sprache) charakterisiert. Diese kognitiven Dysfunktionen werden bei biologischen Verwandten an Schizophrenie erkrankter Individuen in geringem Grad gefunden. Dies lässt vermuten, dass die kognitiven Beeinträchtigungen in der Schizophrenie möglicherweise das Ergebnis einer spezifischen Weitervererbung darstellen.

Zahlreiche Hinweise weisen auf einen Einfluss von CREB1 auf entscheidende Prozesse hin, wie neuronale Plastizität, Lernen, neuronales Überleben und Neuroprotektion, sowie auf die Transkription einer Vielzahl von Genen (Dopamin D1 Rezeptor, Serotonintransporter, Tyrosine hydroxylase, Synapsin), die bereits in Verbindung mit der Schizophrenie gebracht worden sind.

CREB1 wurde im Literaturüberblick als interessantes funktionales Kandidatengen der Schizophrenie in Betracht gezogen. Aus Assoziationsstudien in asiatischen Stichproben existieren ebenfalls Hinweise auf eine Beteiligung an der Suszeptibilität für Schizophrenie. Zusätzlich liegt das CREB1-Gen innerhalb der mit Schizophrenie gekoppelten Region auf Chromosom 2q.

Das CREB1-Gen stellt somit, funktionell und positionell, ein interessantes Kandidatengen für Assoziationsstudien im Zusammenhang mit der Schizophrenie dar.

Aus diesem Grund hat diese Arbeit das Ziel, einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des CREB1-Gens und der Schizophrenie in einem kaukasischen Kollektiv aus 510 Schizophreniepatienten und 1308 gesunden Probanden zu überprüfen. Dazu wurden Allel- und Genotypfrequenzen von 4 SNP zwischen den Gruppen verglichen.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung**

Die Studie wurde mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Die Grundsätze der Deklaration von Helsinki mit ihren Novellierungen von Tokio, 1975, Hong Kong, 1989 und Somerset West, 1996 wurden berücksichtigt. Eine ausführliche Aufklärung sämtlicher Probanden und Betroffenen über die Zielsetzung der Studie sowie die anonymisierte Verwendung von erhobenen Daten und gewonnenen Blutproben fand statt. Die Teilnahme an der Studie erfolgte auf freiwilliger Basis nach Einholung unterschriebener Einverständniserklärungen.

#### **3.2 Studiendesign**

Das Konzept dieser Arbeit ist als Fall-Kontroll-Assoziationsstudie erarbeitet worden. Insgesamt wurden 1818 Teilnehmer (510 Patienten und 1308 Kontrollprobanden) in die Studie mit eingeschlossen. Die SNPs rs2709376, rs2253206, rs2551640, rs2709356 des CREB1-Gens wurden genotypisiert und deren Assoziation zu Schizophrenie untersucht.

Die Studie wurde aus zwei Teilnehmergruppen zusammengesetzt. Die Rekrutierung der Gruppe der Kontrollprobanden erfolgte durch ein mehrstufiges Auswahlverfahren aus gesunden, deutschstämmigen Personen mit Hilfe des Einwohnermeldeamtes aus dem Kreis München. Neuropsychologische Tests, die im Folgenden näher erläutert werden, wurden an den in der Studie eingeschlossenen Personen durchgeführt. Die Analyse umfasste die Ergebnisse von gesunden und deutschstämmigen Probanden (siehe Tabelle 3.1). Ihr Alter lag zwischen 19 und 69 Jahren bei einem Mittelwert von 47 Jahren.

**Tab. 3.1: Anzahl der in den Analysen der verwertbaren Patienten bzw. der verwertbaren Kontrollprobanden. Die Anzahl der Patienten bzw. der Kontrollprobanden wird jeweils pro SNP angegeben**

<b>SNP</b>	<b>Anzahl der Patienten</b>	<b>Anzahl der Kontrollprobanden</b>
<i>rs2709376</i>	510	1308
<i>rs2253206</i>	505	1249
<i>rs2551640</i>	450	1244
<i>rs2709356</i>	483	1279

Die zweite Gruppe setzte sich aus kaukasischen Personen, mit an paranoiden, desorganisierten, undifferenzierten Schizophrenie erkrankten Patienten, entsprechend der DSM-IV Kriterien zusammen. Zur Absicherung der Diagnose lief die Rekrutierung über ein mehrstufiges Auswahlverfahren. In die Analysen wurden die Ergebnisse von männlichen und weiblichen Patienten mit einbezogen. Die Altersspanne lag zwischen 18 und 70 Jahre.

Am Ende der Rekrutierung erfolgte die Blutentnahme beider Probandengruppen für die genetische Untersuchung.

Im Folgenden werden das Studiendesign, sowie die Ein- und Ausschlusskriterien genauer beschrieben.

### **3.3 Kontrollprobanden**

#### **3.3.1 Auswahlverfahren für das Kontrollkollektiv**

Die Kontrollprobanden wurden in einem, aus mehreren Schritten bestehenden, Verfahren rekrutiert. Nach randomisierter Auswahl der Personen, erhielten sie auf postalischem Weg eine Einladung zur Studienteilnahme. Bei bestehendem Interesse wurde ein standardisiertes Telefoninterview durchgeführt, bei dem die grundsätzliche Eignung für die Studienteilnahme geprüft wurde, in dem psychiatrische, psychische und neurologische Erkrankungen des Probanden sowie dessen Familie abgefragt wurden. Hirnorganische und psychische Erkrankungen des Probanden oder dessen Erstgradangehörige gehörten zu den Ausschlusskriterien. Die schriftliche Erfassung einer ausführlicheren somatischen und psychiatrischen Anamnese der Kontrollteil-



nehmer und ihrer Verwandten 1. Grades wurde bei Vorliegen unklarer Hinweise durchgeführt. Darüber hinaus wurden psychiatrische Krankheiten in der Anamnese, insbesondere Angsterkrankungen, Essstörungen, Störungen des Affektes, Störungen aus dem schizophrenen Spektrum sowie Alkohol- und Drogenkonsum, Rauchverhalten und Suizidalität des Probanden und dessen Familienmitgliedern genau erfasst. Die Verifikation der deutschen Herkunft des Probanden wurde als Einschlusskriterium durchgeführt. Konnten weiterhin keine Ausschlusskriterien bei den potentiellen Kontrollprobanden gefunden werden, wurden im nächsten Schritt die Kontrollteilnehmer zu einem umfassenden Interview eingeladen.

Das strukturierte Klinische Interview wurde zur Exploration gemäß der Klassifikation des DSM-IV der *American Psychiatric Association* in seiner vierten Revision, 1994 (DSM-IV dt.: Wittchen et al., 1996, SKID: Wittchen et al., 1997) als Interviewleitfaden eingesetzt. SKID I (Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV) ist ein halbstrukturiertes klinisches, zur Diagnostik von Achse I-Störungen (Hauptdiagnose) nach den DSM-IV Kriterien eingesetztes Interview. SKID II (Wittchen et al., 1997) wird zur Erfassung von Persönlichkeitsstörungen auf der Achse II eingesetzt. Psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ersten Grades wurden mithilfe der *Family History Assessment* Module (Rice et al., 1995) erhoben.

### **3.3.2 Ein-/Ausschlusskriterien der Kontrollprobanden**

Wenn keine Anhaltspunkte für eine psychiatrische Familienanamnese identifizierbar waren, keine Störungen der Achse I und II vorlagen und keine relevanten neurologischen Erkrankungen bekannt waren, wurden die Kontrollprobanden in die Studie mit eingeschlossen.

## **3.4 Patienten**

### **3.4.1 Auswahlverfahren für das Patientenkollektiv**

Zur Einführung, des diagnostischen Interviews, wurde mit den Patienten eine standardisierte Anamneseerhebung durchgeführt, die die Lebensgeschichte, den schulischen und beruflichen Werdegang, die Familien- und Wohnsituation, sowie eigene Erkrankungen, Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenkonsum, ambulante

nervenärztliche Therapie, stationäre psychiatrische Behandlung und eventuelle Suizidversuche, umfasste.

Anschließend wurde das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV SKID I (Wittchen et al., 1997) zur Abklärung der Diagnose einer Schizophrenie durchgeführt. Eine Schizophrenie sollte zumindest zwei der fünf folgende Merkmale aufweisen: Wahn, Wahrnehmungsstörungen in Form von Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatonies Verhalten bzw. Negativsymptomatik wie verflachter Affekt, Alogie oder eine Hemmung des Antriebs. Handelte es sich jedoch um bizarre Wahnvorstellungen oder bestanden die Halluzinationen aus Stimmen, mit kommentierenden oder dialogisierenden Charakter, wurde ein Merkmal als ausreichend betrachtet. Mindestens sechs Monate mussten die Symptome für das Bestehen der Störung fortbestehen. Davon war mindestens für einen Monat die Symptomatik der Akutphase erfüllt. Nach den Vorgaben waren auch negative Symptome während der Prodromal- und Residualphasen ausreichend. Ein weiteres Kriterium waren klinisch relevante Beschwerden mit mindestens passager- ausgeprägten Beeinträchtigungen des Funktionsniveaus im Sozial- oder Arbeitsbereich.

In der Differentialdiagnostik wurden eine schizoaffektive Störung (DSM-IV-Code: 295.70), affektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophreniforme, nur kurze oder nicht näher zu bezeichnende psychotische und rein wahnhaftige Störung ausgeschlossen. Zusätzlich durfte die Exazerbation der Erkrankung nicht auf die Folgen von Substanzmissbrauch bzw. Abhängigkeit (Medikamente, Drogen) und einem medizinischen Krankheitsfaktor (z.B. von neurologischen Erkrankungen, endokrinologischen Faktoren, Elektrolyt-, Stoffwechselstörungen, Autoimmunerkrankungen und anderweitigen somatischen Erkrankungen) zurückgeführt werden können.

Die des phänomenologischen Subtypus erfolgte Subklassifizierung in paranoider, katatoner, desorganisierter, undifferenzierter und residualer Schizophrenie wurde nach den Beurteilungsanleitungen des SKID I und der, das klinische Bild bestimmende, Symptomatik durchgeführt. Der Schweregrad wurde hinsichtlich des aktuellen und des jemals gegebenen ausgeprägtesten Grades beurteilt. Die Chronologie wurde unter Berücksichtigung des Remissiongrades, des Alters bei Erstmanifestation und des Beginns eventueller prodromaler Symptome erfasst. Es wurde zwischen episodischem, kontinuierlichem oder unspezifischem Verlaufsmuster unterschieden.

Von Bedeutung für die Unterteilung in episodischen Abläufen waren eine remittierte Symptomatik, residuale Symptome und, eines chronischen Verlaufs entsprechend, eine eventuell eindeutige negative Symptomatik. Die Befragung eventuell vorliegender Komorbidität wurde mithilfe der diagnostischen Sektionen für Alkoholabhängigkeit und Missbrauch von Drogen sowie Drogenabhängigkeit, posttraumatische Belastungsreaktion, Panikstörungen, Zwangsstörungen, Angststörungen, Anpassungsstörungen, Somatoforme Störungen und Essstörungen.

### **3.4.2 Ein-/Ausschlußkriterien des Patientenkollektivs**

Grundsätzlich wurden nur Patienten in die Studie mit aufgenommen, bei denen folgende Diagnosen sicher ausgeschlossen werden konnten: Patienten mit einer schizoaffectiven Störung, einer anderen Störung aus dem schizophrenen Formenkreis und drogeninduzierten Psychosen, sowie Patienten, bei denen es sichergestellt werden konnte, dass keine organische Erkrankung die Ursache für die Entstehung der Psychose war. Dementsprechend wurden Patienten, bei denen vor der Erstmanifestation einer Psychose eine Epilepsie, eine Enzephalopathie, eine Lues-Infektion oder ein Schädel-Hirn-Trauma diagnostiziert wurde, aus der Studie ausgeschlossen. Bei aktiver Hepatitis B- und C-Infektion, Positivität für HIV oder anamnestischem Hinweis für den intravenösen Konsum von Heroin (*life-time* Abhängigkeit) wurden die Patienten auch von der Studie ausgeschlossen.

## **3.5 Laborverfahren**

Die Laborverfahren erfolgten nach Standardprotokollen der Sektion Molekulare und klinische Neurobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

### **3.5.1 DNA-Extraktion**

Die DNA-Extraktion wurde zur Herstellung einer gereinigten DNA durchgeführt. Diese wird für die anschließende PCR (*Polymerase Chain Reaction*; Polymerase-Kettenreaktion) und das iPlex-Verfahren (Sequenom, San Diego) zur Hochdurchsatzgenotypisierung vorausgesetzt. Von allen Teilnehmern erfolgte die Entnahme venösen Blutes. Die Blutgerinnung wurde hierbei durch die Verwendung von EDTA-Monovetten verhindert. In Tabelle 3.2 ist eine Übersicht der zur DNA-Extraktion notwendiger Materialien, Reagenzien und Geräte. Die Extraktion der

genomischen DNA aus dem EDTA-Blut erfolgte mit dem QIAamp Blood Maxi Kit der Firma Qiagen gemäß dem vorgegebenen Protokoll. Dazu wurden jeweils 5-10ml in ein 50ml großes Zentrifugenröhrchen pipettiert.

**Tab. 3.2: Materialien, Reagenzien und Geräte zur DNA-Extraktion**

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
10x PBS-Puffer: 80g NaCl, 2g KCl, 14,4g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 2,4g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . Ad 1l mit Aqua dest. Mit NaOH auf pH 7,4	Herstellung des 1x PBS-Puffers	Carl Roth, Hamburg
1x PBS-Puffer: 100ml 10x PBS-Puffer, 900ml Aqua dest.	Resuspendierung des Blutkuchens	eigene Herstellung
50ml Zentrifugenröhre	Auffangen der Eluate	Sarstedt, Nümbrecht
Sammelgefäße	Auffangen der DNA	Qiagen, Hilden
EDTA Dinatriumsalz-Dihydrat (Titrierkomplex III)	Herstellung des 10x BPS-Puffers	Carl Roth, Hamburg
EDTA Monovette	Blutentnahme	Sarstedt, Nümbrecht
Eppendorf Research Pipette (100-1000µl)	Pipettierung der DNA	Eppendorf, Hamburg
Ethanol Rotipuran >99,8% p. a.	Entfernung der DNA-Hydrathülle	Carl Roth, Hamburg
Mikroschraubröhre 2,0ml	Lagerung der DNA	Sarstedt, Nümbrecht
Puffer AE	Elution der DNA	Qiagen, Hilden
Puffer AL	Zellyse	Qiagen, Hilden
Puffer AW1	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
Puffer AW2	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
QIAamp Maxi Spin Columns	Bindung der DNA	Qiagen, Hilden
Qiagen-Protease	Abbau von Zellproteinen	Qiagen, Hilden

**Tabelle 3.2: Materialien, Reagenzien und Geräte zur DNA-Extraktion (Fortsetzung)**

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
Rotixa RP	Standzentrifuge alle Zentrifugationsschritte	Hettich, Tuttlingen
Vortex Genie	Durchmischung von Blut-Puffer-Suspensionen	Scientific Industries, New York
WB Wasserbad	Inkubation bei 70°C der Blut-Puffer-Suspension	Memmert, Schabhausen

Ein essentieller Schritt zur Isolierung der DNA ist der proteolytische Abbau der Leukozyten sowie die Freisetzung von Nukleinsäuren. Zu diesem Zweck erfolgte die Gabe von Proteinase K zu dem Vollblut 500µl. Darauf wurde die Probe mithilfe eines Vortexers kurz gemischt. Die Degradierung der denaturierten Proteine, die später die PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) erschweren könnten, erleichtert die Trennung und Reinigung der DNA (Die Verdauung von Histonen, Nukleasen und anderen Proteinen erfolgt durch die Proteinase K während diesem Prozess).

Zur Herstellung optimaler Bedingungen für die Lyseeigenschaften der Proteinase K, wurde nun dieser Lösung 12ml ein Guanidin-HCl-haltiger AL-Puffer hinzugegeben. Eine vollständige Zelllyse und eine Homogenisierung der Lösung werden durch ein 2-minütiges Durchmischen auf dem Vortexer erreicht.

Um den DNA-Ertrag möglichst zu maximieren, wurde darauf mindestens eine 30 minütige Lösungsininkubation im Wasserbad bei 70°C unter gleichmäßigem Durchschütteln durchgeführt.

Die Probe wurde dann mit 10ml Ethanol versetzt, um eine Fällung der DNA zu erzielen. Darauf folgend wurde eine zweiminütige Vermischung der Probe auf dem Vortexer durchgeführt. Anschließend wurde die Lösung mit der DNA auf die Silicamembran abtransportiert. Danach erfolgte eine dreiminütige Zentrifugierung der DNA-Lösung bei 3000 Umdrehungen pro Minute.

Um die Verunreinigungen der RNA- und Proteine zu beseitigen, wurde der Säule 5ml ein Guanidin-HCl-haltiger Waschpuffer (AW1) beigegeben. Anschließend erfolgte die Addition von 5ml eines ethanolhaltigen Waschpuffers (AW2), um die Guanidiumsalsalze wiederum zu beseitigen.

Anschließend erfolgte die Gabe von 1ml AE-Puffer (Tris-Puffer, >9,0). Danach wurde die Elution der DNA von der Silicamembran durchgeführt. Zur Erhaltung eines maximalen DNA-Ertrags erfolgte die DNA-Inkubation mit dem AE-Puffer für 5 Minuten bei Raumtemperatur. Im Anschluss erfolgte eine weitere fünfminütige Zentrifugierung der DNA-Lösung bei 5000rpm. Die unter sauren Bedingungen an die Silicamembran gebundene DNA wurde nun mithilfe des basischen Tris-Puffers abgelöst. Zum Schluss erfolgte die Lagerung der durch diese Prozedur erhaltenen DNA bei -80°C.

### 3.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Zur DNA-Konzentrationsbestimmung erfolgte die Verwendung von dem Fluoreszenzfarbstoff Picogreen (Molecular Probes, Eugene, Oregon) in einem Genios Mikrotiterplatten-Fluoreszenz-Leser (Firma Tecan). Durch dieses fluoreszierende Färbemittel, das nur an doppelsträngige DNA bindet, können kleinste Mengen DNA quantifiziert werden. Die Standardkurve aus humaner chromosomaler Kontroll-DNA (100ng/µl) wurde aus 8 Punktmessungen (0 / 1,5625 / 3,125 / 6,25 / 12,5 / 25 / 50 / 100ng/µl) erstellt.

Zur Durchführung der Konzentrationsbestimmung wurden schwarzen 96 well Platten mit flachem Boden (Greiner) verwendet. Auf jeder Platte, die gemessen werden musste, wurde eine Standardkurve mitgemessen. Um die Messplatte weiter vorzubereiten, wurden 99µl destilliertes Wasser vorgelegt und je 1µl DNA zu pipettiert. Zusätzlich wurden eine zuvor definierte Konzentration von Kontroll-DNA (50ng/µl) sowie ein weiterer Leerwert (destilliertes Wasser) auf je 2 wells pro Platte deponiert.

Anschließend erfolgte unmittelbar vor der Messung die Verdünnung des lichtempfindlichen Picogreen I mit destilliertem Wasser (3.52µl Picogreen Stammlösung mit 11ml Wasser pro Platte). Zu jeder Probe wurden jeweils 100µl Picogreen Arbeitslösung inklusive der Standard-DNA zu pipettiert.

Die Fluoreszenz wurde nach einer Reaktionszeit von 5-10 Minuten sofort mittels Fluoreszenzreader (Tecan Genios) gemessen, da es bereits nach etwa 15 Minuten einen deutlichen Fluoreszenz-Abfall entsteht. Zur Fluoreszenz-Bestimmung erfolgte die Verwendung von einer Anregungswellenlänge von 485nm und die Messung der Emission bei 535nm. Weitere Einstellungen des eingesetzten Tecan Genios Gerätes waren Messung von 10 Lichtblitzen bei einer optimalen Steigerung und ohne Verzögerung mit einer Integrationszeit von 40µs. Im Anschluss wurde eine 8-Punkt-

Kalibrierung durchgeführt. Hierbei wurden Werte, die ermittelt wurden, im Bezug auf die Standardkurve kalibriert. Die Qualitätsüberprüfung der zugrunde gelegten Standardkurve sollte zumindest einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,98$  betragen. Hinsichtlich der qualitativen Typisierungen von SNPs, betrachtete man eine Präzision der DNA-Konzentration von ca.  $\pm 10\%$  als hinreichend.

Diese Methode weist einen optimalen Messbereich bei Konzentrationen zwischen 20 und 200 ng/ $\mu$ l auf. Aus diesem Grund erfolgte die sorgfältige Einstellung aller Proben auf die gleiche Konzentration von 50 ng/ $\mu$ l. Im Anschluss wurden diese wieder vermessen und mit Wasser auf 1 ng/ $\mu$ l verdünnt.

### 3.6 Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte mittels iPLEX, einen Massenspektrometrie-basierten Methode, an vier SNPs. Das Konzept der Assays für diese Polymorphismen im CREB1-Gen (rs2709376, rs2253206, rs2551640, rs2709356) wurden mit Hilfe der Assay Design 3.0 Software (*Sequenom, San Diego, CA*) durchgeführt (siehe Tab. 3.3 und 3.4).

Tab. 3.3: Eingesetzte Primers

ID/Accession No.	Primer 1	Primer 2	Fragmentlänge	Sequenz der Extensionsprimer
<b>rs2709376</b>	ACGTTGGATGCTGG ACCTCTTCAAGAT AC	ACGTTGGATGATGTG GTCA ATATCAGGGAG	07 bp	CCTCAGGGAGATG AAAGAGGAGC
<b>rs2253206</b>	ACGTTGGATGTTTT TTCTGTCACCCATT CC	ACGTTGGATGCTGCA CAATTACATGGACAC	20 bp	AAAAGAAAGTGAT AAGTTACAGTTA
<b>rs2551640</b>	ACGTTGGATGCCAA GTCCCAGAAGTAAA GC	ACGTTGGATGTACCT TATA CAGTGCCTGCC	113 bp	CCATCACTTGACT CTTATGGGTTCA
<b>rs2709356</b>	ACGTTGGATGTCTG CTTCGTAAACTAGC TC	ACGTTGGATGTAAC TCGGGGCATAGTAAC	86 bp	GGCATAGTAACTT TTGGGTA

Die Erstellung der Primers erfolgte nach der Prämisse, sie sollten möglichst nahe an dem jeweils zu amplifizierenden SNP liegen.

**Tab. 3.4: Information über die zu untersuchenden SNPs**

ID/Accession No.	Contig Position	Chromosom 2 Position	Allel	Position im/zum Gen	Funktion
<b>rs2709376</b>	58599805	208098633	C:T	(CREB1)5'-rs2709376-5'(LOC729607)	unbekannt
<b>rs2253206</b>	58601395	208100223	A:G	(CREB1)5'-rs2253206-5'(LOC729607)	unbekannt
<b>rs2551640</b>	58617310	208116138	A:G	intron1	intron1
<b>rs2709356</b>	58621509	208120337	C:T	intron1	intron1

Die Analysen wurden mittels iPLEX (*Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY*) durchgeführt. Eine reproduzierbare, automatisierte Genotypisierung im Hochdurchsatz wird durch dieses Verfahren ermöglicht. Dieses Verfahren ist auf die Analyse von SNPs spezialisiert und verfügt über eine hohe Sensitivität und Präzision.

#### *iPLEX-Verfahren*

Das iPLEX-Verfahren basiert auf drei wesentlichen Schritten: erstens einer konventionellen PCR-Reaktion des zu untersuchenden Genombereichs, zweitens einer weiteren spezifischen PCR-Reaktion, bei der für die einzelnen Allele der SNPs sich ein massenspezifisches Produkt ergibt und drittens der Messung der Produkte im Massenspektrometer.

Die Amplifikation des den SNP flankierenden genomischen Bereichs wurde innerhalb der initialen PCR durchgeführt. Zur Verminderung der Kontaminationsgefahr wurden die PCR-Reaktionen mittels eines Pipettierroboters (Microlab 4000, Hamilton) pipettiert.



In jedes *well* wurde ein PCR-Cocktail bestehend aus den folgenden Substanzen pipettiert:

- 1,85µl H<sub>2</sub>O (ELGA)
- 0,625µl PCR Puffer (Qiagen)
- 0,325µl MgCl<sub>2</sub> (25nM) (Qiagen)
- 0,1µl dNTP (25nM) (Abgene)
- 1µl Primer Mix (je 500 nM) (Qiagen)
- 2,5µl DNA (5-10 ng/µl) und
- 0,100µl Hotstar Taq (5U/µl) (Qiagen)

Im Anschluss erfolgte die Durchführung der Polymerase-Ketten-Reaktion in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems). Hierbei war das Programm des Cyclers für die Primer optimiert.

Zuerst erfolgte eine fünfzehnminütige Erhitzung der Cycler auf 94°C (initiale Denaturierungsprozess). Zur Denaturierung der DNA erfolgte sukzessiv die Erhaltung der Proben für 20s auf 94°C. Anschließend erfolgte das Annealing, in diesem Schritt kühlte man die Proben für 30s auf 56°C herab. Dies hatte die Anlagerung der *forward*- und *reverse*-Primers an die Einzelstränge als Ziel. Zur Anschließung der Nukleotide an den Primers durch die Taq-Polymerase (Elongation) wurde die Temperatur auf 72°C für die Dauer von einer Minute erhöht.

Zur Sicherstellung genügender *Templates* für das weitere Vorgehen erfolgte die Wiederholung dieser drei Schritte. Im Anschluss erfolgte die weitere dreiminütige Erhaltung der Proben auf 72°C zur finalen Extension. Danach wurden sie auf 4°C herabgekühlt. Die Proben wurden bei einer Temperatur von 4°C für das weitere Vorgehen aufbewahrt.

Sämtliche nicht bei der PCR eingebauten Nukleotide, wurden mithilfe des Enzyms SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase) inaktiviert. Damit wurden Störungen der darauf folgenden iPLEX Reaktion vermieden.

Hierzu wurde ein SAP Mix bestehend aus den folgenden Substanzen eingesetzt:

- 0,170µl SAP 10x Puffer
- 0,300µl Enzym (1U/µl)
- 1,530µl H<sub>2</sub>O

Nach Zugabe von 2µl des SAP Mix zu jeder PCR-Reaktion erfolgte die sorgfältige Mischung dieser.

Darauf erfolgte die zwanzigminütige Inkubation der bearbeiteten PCR-Reaktionen in einem Thermocycler bei 37°C. Anschließend erfolgte die Inaktivierung des Enzyms für 5 Minuten bei 85°C und danach wurde es auf 4°C herabgekühlt.

Für die Extensionsreaktion der Primer erfolgt den Entwurf ein weiterer Primer (Extensionsprimer) pro SNP. Dieser wird so konzipiert, dass er sich möglichst Nah dem zu untersuchenden SNP an das Produkt der Polymerase-Ketten-Reaktion bindet. Die Extensionsreaktion wird mit vier Didesoxynukleotiden durchgeführt. Eine Verlängerung der Didesoxynukleotiden ist nach dem Einbau nicht mehr möglich. Dadurch wird jeden Extensionsprimer um eine Base verlängert. Dies führt zur Entstehung von DNA-Fragmente mit unterschiedlichen Massen.

In jedes *well* wird zuerst ein sogenanntes „iPLEX-Cocktail“ pipettiert. Dieses besteht aus den folgenden Substanzen:

- 0,755µl H<sub>2</sub>O (Sequenom)
- 0,200µl iPLEX Puffer (Sequenom)
- 0,200µl iPLEX Abbruch-Mix (Sequenom)
- 0,800µl Primer Mix (7µM-14µM) (Sequenom)
- 0,041µl iPLEX Enzyme (Sequenom)

Die iPLEX-Reaktion erfolgt mittels eines Thermocyclers. Das Programm wendet zwei Durchlaufschleifen an. Eine aus fünf inneren Schleifen bestehende, äußere Schleife, diese wird 40mal durchgelaufen. Für die innere Schleife wird der Cycler zuerst für 30s auf 94°C zur initialen Denaturierung der DNA gebracht. Anschließend erfolgten 5 Zyklen mit Denaturierung für 5 Sekunden bei 94°C, Annealing bei 52°C für 5 Sekunden und Extension bei für 5 sekunden bei 80°C. Diese Annealing- und Extensions-Durchläufe werden weitere viermal durchgeführt. Es kommt zu einer Wiederholung dieser Schritte für insgesamt 40mal, bis eine drei minütige abschließende Extension bei 72°C stattfindet. Im Anschluss werden die Proben auf 4°C herab gekühlt.

Aufgrund der hohen Affinität von Nukleinsäuren zu Alkali- und Erdalkaliionen, erfolgte die Aufbereitung der Proben mit einem Ionenaustauschharz (SpectroClean, Sequenom), um störende Kationen zu entfernen.

Im Anschluss erfolgt der Transfer des Analytengemisches mit Hilfe des MassARRAY Nanodispensers (Sequenom) auf Siliziumchips. Die Chips beinhalten eine aus der organischen Säure 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA) bestehende 384er Matrix. Um das Analysesystems zu kalibrieren, werden zu den 384er Proben Kalibranten aufgetragen, die aus einer Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse bestehen.

Im Anschluss kommt es zur Einführung der Chips in das Massenspektrometer durch eine Vakuumschleuse. Im Hochvakuum des Massenspektrometers erfolgt die Exposition dieses einen intensiven Laserpulses von wenigen Nanosekunden Dauer. Bei der Desorption/Ionisation erfolgt die Erzeugung einfach geladener in die Gasphase übertretende Molekülonen. Es kommt zur Beschleunigung dieser Ionen innerhalb eines elektrischen Feldes. Dadurch erreichen sie eine feldfreie Driftstrecke (Flugrohr), in dem sie in Abhängigkeit vom Masse-/Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) aufgetrennt werden. Als Konsequenz wandern mit hohen  $m/z$ -Werten geltenden Ionen langsamer entlang des Flugrohrs und kommen aus diesem Grund auch später, als mit niedrigeren  $m/z$ -Werten geladenen Ionen, am Detektor an.

Aufgrund der unterschiedlichen Massen der in der Extensionsreaktion erzeugten DNA-Fragmente, werden sie mittels ihrer Flugdauer mittels der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Firma Sequenom) einem spezifischen Genotyp zugeordnet.

### 3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung zu Allel- und Genotypverteilungen der vier Marker wurde mit Hilfe der Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 11.0; Inc Chicago, 2001) durchgeführt. Die Testung der Verteilung der Genotypen erfolgte mit Hilfe des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts.

Von besonderem Interesse war die Differenz in der Verteilung von Allelen und Genotypen zwischen Patienten und Kontrollen. Die Signifikanzprüfung dieser Unterschiede erfolgte mit dem  $\chi^2$  Test nach Pearson.

Ein Signifikanzniveau von  $p < 0.05$  wurde für alle statistischen Berechnungen festgelegt. Ein  $p < 0,1$  wurde als Trend gewertet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Analyse des Markers rs2709376 des CREB1 Gens

#### 4.1.1 Allelverteilung

Die statistische Auswertung ergab die in der Tabelle 4.1 veranschaulichte Verteilung der Allele innerhalb der Kontroll- und Patientengruppe.

Tab. 4.1: Tabellarische Ansicht der Allelverteilung des Polymorphismus rs2709376.

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	2579 (96,7%)	87 (3,3%)	2666
Patienten	974 (97,0%)	30 (3,0%)	1004
Gesamt	3553 (96,8%)	117 (3,2%)	3670

Es konnte kein signifikanter Unterschied der Allelverteilung zwischen Kontrollen und an Schizophrenie erkrankten Patienten gefunden werden.

$$X^2=0.179, OR=0.913 (0.599 - 1.392), df =1, p=0.672$$

#### 4.1.2 Genotypverteilungen

In der Kontroll- und Patientengruppe war die Verteilung der Genotypen des Markers rs2709376 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes.

Tab. 4.2: Berechnung des Hardy-Weinberg-Wertes für den SNP rs2709376 des CREB1-Gens

Gruppe Kontrollen	Gruppe Patienten
$\chi^2=0,0141$ $df=1$ $p=0,647$	$\chi^2=0,04172$ $df=1$ $p=0,336$

Die Genotypenverteilung in beiden Gruppen ist in der Tabelle 4.3 dargestellt.

**Tab. 4.3: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2709376.**

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1224 (93,6)	82 (6,3)	2 (0,2)	1308
Patienten	482 (94,5)	27 (5,3)	1 (0,2)	510
Gesamt	1706 (93,8)	109 (6,0)	3 (0,2)	1818

Die Genotypverteilungen zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe.

$$\chi^2 = 0.657, df = 2, p = 0,720$$

Eine Aufstellung der C-Allel-Träger (C/T und C/C) im Vergleich zu den Homozygoten für das T-Allel wird in der Tabelle 4.4 gezeigt.

**Tab. 4.4: Darstellung der Häufigkeit der C-Träger bzw. Gegenüberstellung mit den homozygoten Trägern für das T-Allel des Polymorphismus rs2709376.**

Gruppe	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1306 (99,8)	2 (0,2)	1308
Patienten	509 (99,8)	1 (0,2)	510
Gesamt	1815 (99,8)	3 (0,2)	1818

Auch hier zeigten die Genotypfrequenzen zwischen den beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

$$\chi^2 = 0.042, OR = 1283 (0.116 - 14.179), df = 1 p = 0.839$$

In Tabelle 4.5 ist die Gegenüberstellung der Allel-Träger (Genotypen aus C/T und C/C) mit den Homozygoten für das C-Allel zu sehen.

**Tab. 4.5: Häufigkeitsdarstellung der Allel-Träger im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das C-Allel des Polymorphismus rs2709376.**

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1224 (93,6)	84 (6,4)	1308
Patienten	482 (94,5)	28 (5,5)	510
Gesamt	1706 (93,8)	112 (6,2)	1818

Es konnte keine Assoziation bei den Genotypenanalysen zwischen beiden Gruppen nachgewiesen werden.

$$X^2 = 0.551, \text{ OR} = 0.846 (0.545 - 1.315), \text{ df} = 1, \text{ p} = 0.458$$

## 4.2 Analyse des Markers rs2253206 des CREB1 Gens

### 4.2.1 Allelverteilung

Eine Darstellung der Allelverteilung innerhalb beider Gruppen (Kontroll- und Patientengruppe) ist in der Tabelle 4.6 zu sehen.

**Tab. 4.6: Zusammenstellung der Allelverteilung des Markers rs2253206.**

Gruppe	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1125 (44,2)	1423 (55,8)	2548
Patienten	474 (47,8)	517 (52,2)	991
Gesamt	1599 (45,2)	1940 (54,8)	3539

Hier wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in den Allelhäufigkeiten zwischen Patienten- und Kontrollgruppe nachgewiesen.

$$X^2 = 3.897, \text{ OR} = 0.862 (0.744 - 0.999), \text{ df} = 1, \text{ p} = 0.048$$

In der Abbildung 4.1 wird dieser Unterschied verdeutlicht.

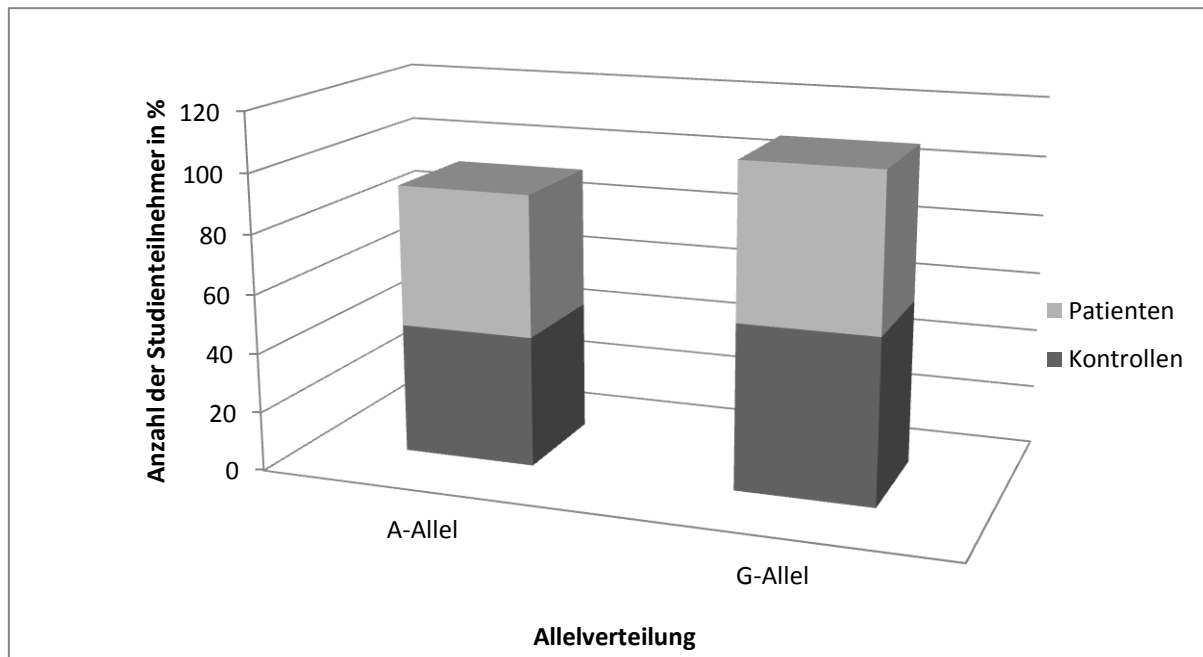


Abb. 4.1: Graphische Darstellung der Allelverteilung des SNPs rs2253206 in der Kontroll- und Patientengruppe.

#### 4.2.2 Genotypverteilungen

In der Kontroll- und Patientengruppe-Analyse wurde eine Verteilung der Genotypen des Markers rs2253206 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes festgestellt.

Tab. 4.7: Darstellung der Hardy-Weinberg-Wert-Berechnung für den SNP rs2253206 des CREB1-Gens

Gruppe Kontrollen	Gruppe Patienten
f=0,026 df=1 p=0,360	f=0,074 df=1 p=0,107

Die Verteilungen der Genotypen beider Gruppen sind aus Tabelle 4.8 ersichtlich.

Tab. 4.8: Tabellarische Darstellung der Genotypverteilung des Markers rs2253206.

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	242 (19,4)	634 (50,8)	373 (29,9)	1249
Patienten	100 (19,8)	270 (53,5)	135 (26,7)	505
Gesamt	342 (19,5)	904 (51,5)	508 (29,0)	1754

Die Frequenzen der Genotypen zeigten keinen Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

$$\chi^2 = 1.761, df = 2, p = 0.415$$

In der Tabelle 4.9 ist die Zusammenfassung der Träger des A-Allels (A/G, A/A) in einer Gruppe und deren Vergleich mit den Homozygoten für das G-Allel ersichtlich.

**Tab. 4.9: Häufigkeitsdarstellung der Träger des A-Allels im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das G-Allel des Markers rs2253206.**

Gruppe	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)
Kontrollen	876 (70,1)	373 (29,9)
Patienten	370 (73,3)	135 (26,7)
Gesamt	1246 (71,0)	508 (29,0)

Bei den Genotypfrequenzen waren zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede zu finden.

$$\chi^2 = 1.714, OR = 0.857 (0.680 - 1.080), df = 1, p = 0.191$$

In der Tabelle 4.10 wird die Analyse der Genotypen gezeigt. In der Tabelle werden die G-Allel-Träger (G/G, A/G) in einer Gruppe zusammengefasst und mit den Homozygoten für das A-Allel verglichen.

**Tab. 4.10: Häufigkeitsdarstellung der G-Träger (Genotypen 2 und 3) im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das A-Allel (Genotyp 1) des Markers rs2253206.**

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	242 (19,4)	1007 (80,6)	1249
Patienten	100 (19,8)	405 (80,2)	505
Gesamt	342 (19,5)	1412 (80,5)	1754

Eine Assoziation zwischen den jeweiligen Genotypen und der Schizophrenie konnte hiermit nicht festgestellt werden.



$$\chi^2 = 0.042, OR = 0.973 (0.750 - 1.262), df = 1, p = 0.838$$

### 4.3 Analyse des Markers rs2551640 des CREB1 Gens

#### 4.3.1 Allelverteilung

In der Tabelle 4.11 wird die Verteilungsanalyse der Allelen innerhalb beider Gruppen (Patienten und Kontrolle) wiedergegeben.

Tab. 4.11: Tabellarische Darstellung der Verteilung des Allels innerhalb des Polymorphismus rs2551640.

Gruppe	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1710 (67,7)	814 (32,3)	2524
Patienten	607 (67,7)	290 (32,3)	897
Gesamt	2317 (67,7)	1104 (32,3)	3421

Einen statistisch signifikanten Unterschied in den Allelhäufigkeiten zwischen beiden Gruppen konnte nicht festgestellt werden.

$$\chi^2 = 1.006, OR = 1.004 (0.853 - 1.181), df = 1, p = 0.965$$

#### 4.3.2 Genotypverteilungen

In der Kontroll- und Patientengruppe-Analyse war die Genotypenverteilung des Markers rs2551640 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes.

Tab. 4.12: Darstellung der Hardy-Weinberg-Werte-Berechnung für den SNP rs2551640 des CREB1-Gens

Gruppe Kontrollen	Gruppe Patienten
f=0,028 df=1 p=0,327	f=0,003 df=1 p=0,1

Die Zuweisung der möglichen Genotypen für den Polymorphismus rs2551640 des CREB1-Gens erfolgte folgendermaßen:

Die Analyse der Genotypenverteilung in beiden Gruppen wird in der Tabelle 4.13 gezeigt.

**Tab. 4.12: Tabellarische Darstellung der Verteilung des Genotyps vom Polymorphismus rs2551640.**

Gruppe	Genotyp 1 A/A n (%)	Genotyp 2 A/G n (%)	Genotyp 3 G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	585 (47,0)	525 (42,2)	134 (10,8)	1244
Patienten	205 (45,6)	197 (43,8)	48 (10,7)	450
Gesamt	790 (46,6)	722 (42,6)	182 (10,7)	1694

In den Frequenzen der Genotypen zeigte sich keinen Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

$$\chi^2 = 0.349, df = 2, p = 0.840$$

Folgende Tabelle (Tab. 4.14) zeigt die Zusammenfassung der A-Allel-Träger (G/A und A/A) in eine Gruppe und deren Vergleich mit den Homozygoten für das G-Allel.

**Tab. 4.13: Häufigkeitsdarstellung der Träger des A-Allels im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das G-Allel des Polymorphismus rs2551640.**

Gruppe	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1110 (89,2)	134 (10,8)	1244
Patienten	402 (89,3)	48 (10,7)	450
Gesamt	1512 (89,3)	182 (10,7)	1694

Zwischen den jeweiligen Genotypen wurde keine Assoziation mit der Schizophrenie festgestellt.

$$\chi^2 = 0.004, \text{ OR} = 0.989 (0.698 - 1.402), \text{ df} = 1, \text{ p} = 0.951$$

In Tabelle 4.15 finden sich nun die Träger des G-Alles (G/A und G/G) zusammengefügt und verglichen mit den Homozygoten für das A-Allel.

**Tab. 4.14: Darstellung der Häufigkeit der G-Allel-Träger im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das A-Allel des Polymorphismus rs2551640.**

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	585 (47,0)	659 (53,0)	1244
Patienten	205 (45,6)	245 (54,4)	450
Gesamt	790 (46,6)	904 (53,4)	1694

Es konnte auch hier keine signifikante Häufung zwischen den jeweiligen Genotypen und der Schizophrenie festgestellt werden.

$$\chi^2 = 0.287, \text{ OR} = 1.061 (0.855 - 1.317), \text{ df} = 1, \text{ p} = 0.592$$

## 4.4 Analyse des Markers rs2709356 des CREB1 Gens

### 4.4.1 Allelverteilung

Nach der statistischen Auswertung ergab sich die in der Tabelle 4.16 ersichtliche Verteilung der Allele innerhalb beider Gruppen (Patienten- und Kontrollgruppe).

**Tab. 4.15: Darstellung der Verteilung der Allele des Polymorphismus rs2709356.**

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	2068 (78,3)	573 (21,7)	2641
Patienten	729 (79,2)	191 (20,8)	920
Gesamt	2797 (78,5)	764 (21,5)	3561

Es konnte keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontrollen und schizophren erkrankten Patienten festgestellt werden.

$$X^2=0.354, OR=0.946 (0.786 - 1.137), df =1, p= 0.552$$

#### 4.4.2 Genotypverteilungen

In der Kontroll- und Patientengruppe war die Verteilung der Genotypen des Markers rs2709356 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes.

**Tab. 4.16: Darstellung der Hardy-Weinberg-Wert-Berechnung für den SNP rs2709356 des CREB1-Gens**

Gruppe Kontrollen	Gruppe Patienten
f=0,010 df=1 p=0,801	f=0,058 df=1 p=0,229

Die Analyse der Genotypenverteilung in beiden Gruppen ist in der Tabelle 4.18 dargestellt.

**Tab. 4.17: Darstellung der Verteilung des Genotyps im Polymorphismus rs2709356.**

Gruppe	Genotyp 1 C/C n (%)	Genotyp 2 C/T n (%)	Genotyp 3 T/T n (%)	Gesamt N
Kontrollen	793 (62,0)	431 (33,7)	55 (4,3)	1279
Patienten	291 (60,2)	174 (36,0)	18 (3,7)	483
Gesamt	1084 (61,5)	605 (34,3)	73 (4,1)	1762

Die statistische Auswertung der Genotypverteilungen zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe.

$$X^2 = 1.006, df = 2, p = 0,605$$

Eine Aufstellung des C-Allel-Trägers (T/C und C/C) gegenüber den Homozygoten für das T-Allel ist in der Tabelle 4.19 dargestellt.

**Tab. 4.18: Häufigkeitsdarstellung der Träger des C-Allels gegenüber den homozygoten Trägern für das T-Allel des Polymorphismus rs2709356.**

Gruppe	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1224 (95,7)	55 (4,3)	1279
Patienten	465 (96,3)	18 (3,7)	483
Gesamt	1689 (95,9)	73 (4,1)	1762

Die Genotypfrequenzen zwischen den Kontroll- und Patientengruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied.

$$X^2=0290, OR=0.861 (0.501 - 1.482), df =1, p= 0.590$$

In Tabelle 4.20 wurden nun die T-Allel-Träger (Genotypen aus C/T und C/C) den Homozygoten für das C-Allel gegenübergestellt.

**Tab. 4.19: Häufigkeitsdarstellung der T-Allel-Träger gegenüber den homozygoten Trägern für das C-Allel des Polymorphismus rs2709356.**

Gruppe	Genotyp C/C (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	793 (62,0)	486 (38,0)	1279
Patienten	291 (60,2)	192 (39,8)	483
Gesamt	1084 (61,5)	678 (38,5)	1762

Es konnte hier keine Assoziation bei den Genotypenanalysen zwischen beiden Gruppen nachgewiesen werden.

$$X^2 =0.455, OR = 1.077 (0.869 - 1.334), df = 1, p = 0.500$$

## 5 Diskussion

Aufgrund der multiplen Funktionen der Signaltransduktionswege, besonders bei solchen Genen die in die synaptische Übertragung und Plastizität involviert sind, wurde das CREB1-Gen als plausibles Kandidatengen für Schizophrenie angesehen und auf seine Assoziation zu Schizophrenie untersucht. Darüber hinaus, auf der Studie von Kawanishi et al. und Ma et al. basierend, scheint das CREB1-Gen ein potentielles Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie zu sein (Kawanishi et al., 1999; Ma et al., 2014).

Bei der Untersuchung der Assoziationen von genetischen Polymorphismen des CREB1-Gens mit der Schizophrenie wird eine potentielle Assoziation beider Merkmale überprüft. Bei einer statistischen Assoziation der Schizophrenie mit einem gehäuftten Auftreten eines Genotypen bzw. Allels eines der untersuchten Polymorphismen, ließen sich ein Zusammenhang dieses Allels/ Genotypen mit der Erkrankung vermuten.

In dieser Studie wurde eine Assoziation zwischen den Einzelnukleotidpolymorphismen (*Single Nucleotide Polymorphismen*, SNPs) rs2709376, rs2253206, rs2551640 und rs2709356 des CREB1-Gens und der Schizophrenie gesucht. Aufgrund der Untersuchungsergebnisse können diesbezüglich folgende Aussagen getroffen werden:

In der hier vorgestellten Arbeit konnte eine Assoziation für einen der untersuchten Polymorphismen des CREB1-Gens (rs2253206) mit der Diagnose Schizophrenie festgestellt werden. Für die anderen drei Polymorphismen ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge.

Die Ergebnisse der bislang größten genomweiten Assoziationsstudie der Schizophrenie wurden im Jahr 2014 vorgelegt. Dabei erfolgte die Analyse von Proben von bis zu 36989 an Schizophrenie Erkrankten und 113075 gesunden Probanden, die als Kontrolle dienten. Daraus erfolgte die Identifikation einer genomweiten signifikanten Assoziation von 108 Loci mit der Schizophrenie. Unter diesen wurden 83 Loci erstmalig beschrieben (*Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium*, 2014). CREB1 konnte dabei nicht als genomweit signifikant mit der Schizophrenie assoziiert identifiziert werden.

Aktuell weist die Literatur lediglich wenige Arbeiten auf, die der Fragestellung nachgehen, ob eine Assoziation verschiedener Polymorphismen des CREB1-Gens mit der Schizophrenie besteht (Kawanishi et al., 1999; Crisafulli et al., 2012; Ma et al., 2014). Obwohl die Studien von Kawanishi und Ma sich in Aspekten wie Stichprobengröße, Ethnizität der Probanden, Alter der Probanden und teilweise im methodischen Ansatz von der hier vorgestellten Studie unterscheiden, können doch gemeinsame Merkmale gefunden werden. Dadurch können diese Arbeiten mit der hier vorliegenden, mit gewissen Vorbehalten, verglichen werden.

## 5.1 Diskussion der Methodik

### *Studiendesign*

Die vorliegende Arbeit und deren ausgewählten Studiendesign wurden als eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie verfasst. In Studien, die so konzipiert sind, wird danach gesucht, ob eine Assoziation zwischen einem Allel eines Kandidatengens mit der Erkrankung vorliegt (Bickeböller et al., 2007). Das sogenannte Strukturierte Klinische Interview (SKID I und II) nach der DSM-IV-Klassifikation (Wittchen et al., 1997) wurde zur Diagnosestellung der Schizophrenie ausgewählt. Vorteile dieses strukturierten klinischen Interviews sind die hohe Reliabilität, die kurzzeitige Durchführung, die gute Möglichkeit der Auffassung der Antworten durch gezielte Fragen sowie die unkomplizierte Auswertung und Interpretation der Antworten. Diese Faktoren tragen alle zu einer Vereinfachung der Diagnosestellung bei. Die vorausgesetzte Erfahrung des Interviewers sowie die notwendigen Kenntnissen der DSM-IV-Klassifikation sind die Nachteile des Verfahrens. Aufgrund der Möglichkeit einer einfachen Diagnosestellung wird diese Klassifikation bei anderen ähnlichen Studien verwendet (Ftoun et al., 2005). Die hier vorgestellte Arbeit untersuchte, ob eine Assoziation einzelner Einzelnukleotidpolymorphismen (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNPs) des CREB1- Gens mit der Pathogenese der Schizophrenie besteht. Diese SNPs, rs2709376, rs2253206, rs2551640 und rs2709356, liegen auf Chromosom 2 (2q34).

Die Referenzstudie von der Forschungsgruppe um Kawanishi war ebenfalls als Fall-/Kontrolluntersuchung konzipiert. Diagnostisch bestimmend waren die ICD-10-Kriterien, gemäß derer die Schizophrenie klassifiziert wurde. In der Studie von Kawanishi et al. wurden sechs Marker untersucht, die sich über das gesamte

CREB1-Gen verteilt. Die Forschungsgruppe um Kawanishi analysierte die Promoterregion der humanen CREB1-Gene, um genetische Varianten, die potentiell zu einer Modifikation der CREB1-Expression und somit zur Entstehung der Schizophrenie beitragen könnten, identifizieren zu können (Kawanishi et al., 1999). Bei der Studie der Forschungsgruppe um Kawanishi, die eine Assoziation zwischen anderen Polymorphismen des CREB1-Genes und der Schizophrenie untersuchten, zeigten sich bei zwei Varianten des CREB1-Genes (-933T->C und -413G->A) ebenso signifikante Unterschiede.

Die Forschungsgruppe um Ma konzipierten ihre Studie ebenfalls als Fall-/ Kontrolluntersuchung. Diagnostisch bestimmend waren, im Unterschied zur Studie von der Forschungsgruppe um Kawanishi und der vorliegenden Studie, die DSM-IV-Kriterien, gemäß derer die Schizophrenie klassifiziert wurde. In der Studie von Ma et al. wurden bei 976 an Schizophrenie erkrankten, nicht verwandten Patienten und 1043 psychiatrisch gesunde Probanden Han chinesischer Abstammung 62 SNPs die sich über insgesamt 6 sogenannte CSP (*CREB1 Signal Pathway*)-Gene verteilt untersucht. Die Autoren analysierten diese spezifische in den Signalwegen involvierten CREB1-Gene und deren molekularen Evolution sowie deren potentiellen Beteiligung in der Ätiopathogenese der Schizophrenie. Bei der Studie der Forschungsgruppe um Ma wurde untersucht, ob die CSP-Polymorphismen des CREB1-Genes und der Schizophrenie assoziiert sind, zeigte sich eine Assoziation zwischen 2 SNPs (rs4379857,  $P = 0.009$ , OR [95% CI]: 1.200 [1.379e1.046]; rs2238751,  $P = 0.023$ , OR [95% CI]: 1.253 [1.522 e1.032]) und der Schizophrenie. Dieser signifikante Unterschied konnte nach den mehrfachen statistischen Korrekturtestungen jedoch nicht bestätigt werden. Hingegen stellten sie eine Assoziation zwischen dem seltenen CREB1-Haplotyp CCGGC (Bonferroni-Korrektur  $P = 1.74 \times 10^{-5}$ ) und der Schizophrenie (Ma et al., 2014).

In einer Arbeit von der Forschungsgruppe um Crisafulli wurde einerseits untersucht, ob bestimmte SNPs innerhalb von CREB1 (rs2709377 und rs6740584), CREBBP (CREB-binding protein) (rs2239317, rs2239316, rs3025702, rs130021, rs130005, rs129974 und rs9392) und CREM (cAMP response element-modulator) (rs1148247, rs4934735, rs12775799, rs6481941 und rs16935888) mit der Schizophrenie und deren Entstehung assoziiert sind, andererseits, ob sie sich prädiktiv bezüglich des klinischen *Outcomes* bei an Schizophrenie erkrankten Patienten erweisen können



(Crisafulli et al., 2012). Crisafulli et al., führten eine Genotypisierung durch von insgesamt 10 SNPs innerhalb von CREB1, CREBBP und CREM bei 221 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 170 psychiatrisch gesunde Probanden, beide koreanischer Abstammung. Crisafulli und Kollegen konnten keine Assoziation zwischen den von ihnen untersuchten SNPs und der Suszeptibilität an Schizophrenie zu erkranken bzw. dem Ansprechen auf neuroleptische Medikation feststellen (Crisafulli et al., 2012).

Die Resultate der hier vorgestellten Arbeit zeigten einen statistisch signifikanten Unterschied ( $p = 0.048$ ) des Polymorphismus rs2253206 des CREB1-Gens. Aufgrund der sorgfältig ausgewählten Einschlusskriterien, der in der Größe ausreichenden Stichprobenmenge, die dadurch eine größere Teststärke zeigte, kann die Auswirkung methodischer Artefakte als verhältnismäßig niedrig betrachtet werden. Das bedeutet, dass ein Zusammenhang der Schizophrenie mit dem untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismus vermutet werden kann. Der Polymorphismus rs2253206 liegt ca. 2500 Nukleotide 5' zum CREB1-Gen und damit in einer potentiellen Promoterregion. Sowohl dieser SNP als auch die von Kawanishi untersuchten Promoter SNPs liegen in einem Bereich mit hohem Kopplungsungleichgewicht (International HapMap Consortium 2015).

Mithin weisen die Ergebnisse unserer Arbeit Ähnlichkeiten mit den Ergebnissen der Arbeiten der Forschungsgruppen um Kawanishi und Ma vor in Bezug auf eine potentielle Rolle des CREB1-Genes in der Ätiopathogenese der Schizophrenie. Es gibt jedoch einige erklärungsbedürftige Aspekte, was die Vergleichbarkeit der Studien betrifft, die im folgenden Abschnitt näher kritisch beurteilt und ausführlich diskutiert werden.

### *Ethnizität*

Eine Ethnizität, die vergleichbar ist, besitzt hohe Relevanz. Denn der Vergleich von Populationen unterschiedlicher ethnischer Herkunft und unterschiedlichen Erkrankungsraten kann zu Verzerrungen führen (Cardon and Palmer, 2003; Colhoun et al., 2003). Cardon und Bell weisen darauf hin, dass zum Beispiel die Population mit der höheren Prävalenz oder Erkrankungsrate bezogen auf die Gesamtbevölkerung überrepräsentiert sein könnte. Dadurch könnten im Studienvergleich Unterschiede aufgedeckt werden, die auf der unterschiedlichen Ethnizität zurückzuführen sind und nicht

für die Erkrankung verantwortlich sind (Cardon and Bell, 2001). In der vorliegenden Arbeit wurde die Ethnizität berücksichtigt. Es erfolgte der Vergleich der registrierten Daten der für diese Arbeit ausgewählten Population mit Daten von anderen Populationen (Tabelle 24). Die Daten der Vergleichspopulationen basieren aus der Veröffentlichung des HapMap-Projekts. Ziel des internationalen HapMap-Projekts (HapMap, 2011) ist die Allelfrequenz und Genotypverteilung zu erheben und veröffentlichen sowie zusätzliche Informationen über verschiedene Marker in unterschiedlichen Populationen zu erlangen. Hierdurch kommt es zur Entstehung einer Art Kartographierung der Marker. Der Vergleich der Genotypfrequenzen von rs2253206 in der vorliegenden Studie mit Genotypfrequenzen in Stichproben anderer Ethnizitäten aus der HapMap-Stichprobe ist in Tabelle 5.1 dargestellt.

**Tab. 5.1: Genotypfrequenzen des SNPs rs2253206 in verschiedenen Populationen.**

<b>Stichprobe</b>	<b>Ethnizität</b>	<b>Genotypen</b>		
<b>rs2253206</b>		<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>
<b>CEU</b>	<i>Europäisch</i>	0,25	0,46	0,29
<b>HCB</b>	<i>Chinesisch</i>	0,09	0,42	0,49
<b>JPT</b>	<i>Japanisch</i>	0,12	0,38	0,50
<b>YRI</b>	<i>Afrikanisch (Sub-Sahara)</i>	0,48	0,47	0,05
<b>München</b>	<i>Kaukasisch</i>	0,19	0,51	0,29

Bei der Betrachtung der Verteilung des Genotyps sowie der Allele im untersuchten SNP im CREB1-Gen, ragen die Unterschiede, zwischen den einzelnen Ethnien, sogleich heraus. Die Verteilung der Genotypen der europäischen (kaukasischen) Stichprobe unterscheidet sich deutlich von der Stichprobe aus Japan. Im Bezug auf den SNP rs2253206 lässt sich die Genotypenverteilung der Stichprobe der vorliegenden Arbeit ebenfalls deutlich von der japanischen Stichprobe unterscheiden. Die geringeren Abweichungen, im Vergleich zur kaukasischen Stichprobe aus Europa, können als Hinweis für die Validität der Ergebnisse der vorliegenden Studie gewertet werden.

Die laut International HapMap Consortium regelmäßig großen unterschiedlichen Verteilungen der Genotypen und Allele zwischen den Ethnien, unterstreichen die Relevanz der Stichprobentrennung nach der jeweiligen Abstammung. In der vorliegenden

Arbeit sowie in der Studie von Kawanishi und Ma erfolgte die erwähnte auf der Abstammung basierende Stichprobentrennung. Dies könnte eine potentielle Erklärung für die fehlende Reproduzierbarkeit signifikanter Assoziationen zwischen verschiedenen Arbeiten darstellen. Andererseits erscheint es aus diesem Grund als notwendig, die Untersuchung der in der vorliegenden Arbeit assoziierten SNPs in anderen ethnischen Bevölkerungen (z. B. in einer japanischen Stichprobe) durchzuführen, um einerseits zu überprüfen, ob diese spezifisch für eine Population sind, ob die Assoziation nur in einer bestimmten Bevölkerungsgruppe mit der Schizophrenie besteht oder, bei tatsächlicher Replikation der assoziierten Polymorphismen, um die Allgemeingültigkeit der Ergebnisse zu stützen.

### *Stichprobengröße*

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 1818 Probanden deutscher Abstammung untersucht, von denen 1308 gesunde Probanden und 510 an Schizophrenie Erkrankte waren. Die große Stichprobe dieser Studie lässt eine hohe statistische Aussagekraft vermuten. Die angeführte Referenzstudie von Kawanishi et al. unterscheidet sich erheblich in der Anzahl der Studienteilnehmer. Die Forschungsgruppe um Kawanishi rekrutierte 100 gesunde nicht verwandte Probanden japanischer Abstammung (Durchschnittsalter,  $39.8 \pm 12.8$ ) und 80 nicht verwandte, aus Japan stammende Schizophreniepatienten (Durchschnittsalter,  $47.6 \pm 14.2$ ; Durchschnittsalter beim Ausbruch der Krankheit,  $26.9 \pm 9.1$ ). Ma et al. rekrutierten für ihre Studie 1043 nicht verwandte gesunde Probanden Han chinesischer Abstammung (Durchschnittsalter  $\pm$  SD  $37.41 \pm 14.22$ ) und 976 an Schizophrenie erkrankte Probanden (Durchschnittsalter  $\pm$  SD  $24.92 \pm 8.33$ ). Die statistische Aussagekraft einer Studie variiert stark aufgrund der Anzahl der untersuchten Studienteilnehmer. Die Untersuchung von Markern, deren Vorkommen sehr häufig oder nur selten in der allgemeinen Bevölkerung ist, gestaltet sich als äußerst schwierig, wenn das Studienkollektiv zu klein ist. Das gleiche gilt bei Markern, bei denen nur eine geringe Häufigkeitsdifferenz zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe besteht. Deutlich geringere Fallzahlen in einer Studie könnten ursächlich für falsche positive oder negative Ergebnisse sein. Die Ergebnisse der bislang größten genomweiten Assoziationsstudie der Schizophrenie wurden im Jahr 2014 vorgelegt. Hierbei erfolgte die Probenanalyse von bis zu 36989 an Schizophrenie Erkrankte und 113075 gesunde Probanden, die als Kontrolle dienten. Daraus erfolgte die Identifikation einer genomweiten signifikanten As-

soziation von 108 Loci mit der Schizophrenie. Unter diesen wurden 83 Loci erstmalig beschrieben (*Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium*, 2014). Diese Daten lassen die Inkonsistenz der bisherigen Ergebnisse der Assoziationsstudien nicht überraschend erscheinen.

### *Genotypisierungsmethode*

Die Analysen der Promoterregionen des humanen CREB1-Gens in der Arbeit von Kawanishi et al. wurden mithilfe der Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)-Analyse und Sequenzierung durchgeführt.

Mithilfe der *SSCP-Analyse* wird nach unbekannten Mutationen und Polymorphismen gesucht (Hayashi and Yandell, 1993). Die Suche nach unbekannten Mutationen und Polymorphismen erfordert die Durchführung der Analyse unter verschiedenen Bedingungen. Trotzdem werden nicht alle Veränderungen mit diesem Verfahren erkannt (Hayashi and Yandell, 1993). Die Sensitivitätsangaben der SSCP-Analyse variieren stark und sind nicht nur von der jeweiligen Veränderung der DNA abhängig. Sie werden auch durch die Länge des untersuchten DNA-Fragments beeinflusst. Hayashi und Yandell führten die Auswertung verschiedener Untersuchungen aus. Die Forscher konnten feststellen, dass eine Fragmentlänge unter 200 Basenpaaren eine Sensitivität von über 90% aufweist. Bei Fragmentlängen von 300-350 Basenpaaren liegt diese noch bei über 80% (Hayashi and Yandell, 1993). Kawanishi et al. verwendeten bei ihrem Mutationsscreening PCR-Primer, deren Fragmentlängen, zwischen 20 bis 30 Basenpaaren variierten.

Die *Single Strand Conformation Polymorphism-Analyse* wird aktuell jedoch durch andere neuere effektivere und genauere Sequenzierungstechniken ersetzt. Nichtsdestotrotz kann eine hohe Sensitivität bei dem Mutationsscreening mithilfe der *Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)-Analyse* in der Studie von Kawanishi et al. vermutet werden.

Die Analysen der CSP-Polymorphismen des CREB1-Gens in der Studie von Ma et al. wurden mithilfe des *AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kits*, des *SNaPshot* sowie des *GeneMarker Softwares* durchgeführt (Ma et al., 2014).

Die Analysen in der vorliegenden Studie wurden mittels des *MASS ARRAY Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Systems* (*MASS ARRAY*

*MALDI-TOF System*) durchgeführt. Dies ist ein modernes, auf die Analyse von SNPs spezialisiertes Verfahren, das eine reproduzierbare, automatisierte Genotypisierung im Hochdurchsatz bei hoher Sensitivität ermöglicht. Im Verlauf der Jahrtausendwende und den Jahren danach löste die durch das *MASS ARRAY MALDI-TOF System* durchgeführte Spectrometrie die *Single Strand Conformation Polymorphism-Analyse* als häufig verwendete Hoch-Durchsatz-Genotypisierungs-Methode ab (Pusch et al., 2002).

Es wird angenommen, dass die Genetik der Schizophrenie auf ein bestimmtes Spektrum an Mutationshäufigkeiten zurückzuführen ist. Diese Mutationen sind eine Mischung aus häufig vorkommenden (*common*) Variationen mit geringem Effekt (viele SNPs) und selten vorkommende (*rare*) Varianten mit großem Effekt (z.B. CNVs) (Sebat et al. 2009; Gejman 2010). Indessen erbrachten nicht alle Ergebnisse eine eindeutige Evidenz für diese Annahme. Eine genomweite Studie von SNPs und CNVs zeigte keine signifikanten Zusammenhänge von Suszeptibilitätsmarkern (Need et al., 2009). Hingegen unterstützen auch diese Ergebnisse die Annahme, dass es spezifische Regionen im Genom gibt die an der Entwicklung der Erkrankung mitbeteiligt sind die aber nicht häufig vorkommen und die somit von nur wenigen Patienten miteinander geteilt werden (Need et al. 2009). Dies kann in der Studie der Forschungsgruppe um Kawanishi beobachtet werden, die eine Assoziation zwischen anderen Polymorphismen des CREB1-Genes und der Schizophrenie untersuchten und bei denen zwei Varianten des CREB1-Genes (-933T->C und -413G->A) signifikante Unterschiede zeigen konnten (Kawanishi et al., 1999). In der vorliegenden Arbeit wird mit großer Wahrscheinlichkeit, bei Untersuchung einer potentiellen Assoziation von Einzelnukleotidpolymorphismen des CREB1-Gens mit der Pathogenese der Schizophrenie, die andere Seite des Spektrums der Mutationshäufigkeiten mit eben häufigen (*common*) Mutationen mit kleinem Einfluss beobachtet.

## 5.2 Diskussion funktioneller Auswirkungen

Die Studie von Kawanishi et al. bzw. von Ma et al. und die hier vorgestellte Arbeit liefern Hinweise darauf, dass ein möglicher Zusammenhang zwischen dem CREB1-Gen und der Schizophrenie besteht (Kawanishi et al., 1999). Die Forschungsgruppe um Kawanishi fand zwei neue Varianten (-933T->C und -413G->A) im CREB1-Gen in Hinblick auf Schizophrenie (Kawanishi et al., 1999). Die Forschungsgruppe um Ma

fand eine Assoziation zwischen zwei SNPs (rs4379857,  $P = 0.009$ , OR [95% CI]: 1.200 [1.379-1.046]; rs2238751,  $P = 0.023$ , OR [95% CI]: 1.253 [1.522-1.032]) und der Schizophrenie (Ma et al., 2014). Crisafulli et al. fanden jedoch einen fehlenden Einfluss der von ihnen untersuchten SNPs innerhalb der CREB1-Gene auf die Suszeptibilität an Schizophrenie zu erkranken (Crisafulli et al., 2012). Die Resultate der hier vorliegenden Arbeit zeigten einen statistisch signifikanten Unterschied ( $p = 0.048$ ) des Polymorphismus rs2253206 des CREB1-Gens. Die potentielle Assoziation der oben genannten Polymorphismen des CREB1-Gens mit der Schizophrenie lässt vermuten, dass die Funktion des CREB1-Gens durch solche Einzelnukleotidpolymorphismen beeinflusst werden könnte. Welche Funktionen des CREB1-Gens durch Einzelnukleotidpolymorphismen verändert werden, in welchen zellulären Prozessen sich diese Veränderungen manifestieren, und wie und in welchem Ausmaß diese Veränderungen bei der Pathophysiologie der Schizophrenie beitragen, sind einige der Fragen, die diese Ergebnisse aufwerfen.

Mithilfe von Assoziations- und Kopplungsstudien erfolgte die Identifikation einer großen Anzahl an Suszeptibilitätsgenen in unterschiedlichen Genloci. Etliche, bereits identifizierte Suszeptibilitätsgene stehen in funktioneller Verbindung mit dem CREB1-Gen und können daher eine pathophysiologische Basis zum Verständnis der Rolle des CREB1-Gens in der Ätiologie der Schizophrenie liefern. Im Folgenden werden einige der zahlreichen identifizierten Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie erläutert, sowie ihre Beteiligung in zellulären Prozessen und Signaltransduktionswegen, die in enger funktionaler Verbindung mit dem CREB1-Gen und seinen Produkten stehen.

### **5.2.1 Studien zur Entwicklung des ZNS, Neuroplastizität, Neuroregeneration und CREB1**

Die dopaminerge Hypothese der Schizophrenie wurde in den letzten Jahren durch verschiedene Assoziations- und Kopplungsstudien bereichert. Aktuell liegen signifikante Ergebnisse für die Gene *Catechol-O-Methyltransferase* (COMT), Dopamin D2 Rezeptor (DRD2), Dopamin und Adenosin 3',5'-monophosphate-regulierte Phosphoprotein (DARPP-32), und *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) vor (Chan et al., 2009). BDNF ist ein Mitglied der neurotrophen Wachstumsfaktorenfamilie, die die Entwicklung, Regeneration, Plastizität und neuronales Überleben fördert (Abbildung 5) (Chan et al., 2009).

BDNF führt diese Prozesse durch ein komplexes Spektrum intrazellulärer Signalwege, wie der Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI-3K) –AKT Signalweg, und der *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK)-Signalweg, durch (Chan et al., 2009). Beide Signalwege, sowie andere zahlreiche Signalwege, die das neuronale Überleben fördern, konvergieren auf einen Transkriptionsfaktor, den *cyclic-AMP responsive-element binding protein* (CREB1), der wie der Wachstumsfaktor BDNF zur Förderung der Entwicklung, Regeneration, Plastizität und neuronalem Überleben führt (Chan et al., 2009). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die BDNF-Transkription von der CREB1-Phosphorylierung abhängig ist (Chan et al., 2009).

Positive Ergebnisse liegen für weitere Kandidatengene für Schizophrenie, die die glutamaterge Hypothese unterstützen vor: Neuregulin 1 und Dysbindin. Die Forschungsgruppe um Steffanson stellte fest, dass Neuregulin eine wichtige Rolle bei der Expression und Aktivierung von Neurotransmitter-Rezeptoren, wie der NMDA-Rezeptor, stark involviert ist (Steffansson et al., 2002). In einer aktuellen Metaanalyse wurde von einer statistisch signifikanten Assoziation des GRIN2-Genes in Hinblick auf Schizophrenie berichtet (Li and He, 2007). Dysbindin (DTNBP1, Dystrobrevin Binding Protein 1) wird im menschlichen Gehirn in zahlreichen Regionen exprimiert und ist in Kognitions- und Gedächtnisprozesse beteiligt (Owen et al., 2004). Zahlreiche Studien in verschiedenen Populationen fanden positive Assoziationen von Dysbindin mit Schizophrenie (Straub et al., 2002; Funke et al., 2004; Kohn et al., 2004; Williams et al., 2004). Dysbindin, agiert per PI3K (Phosphatidylinositide 3-kinase)- Signalisierung, ein Transduktionssignalweg, der in CREB1 zusammenläuft und aktiviert, woraus eine vermehrte Expression verschiedener, u. a. in kognitiven Prozessen und Gedächtnis involvierten Gene, resultiert.

Etliche Gene, die in Defiziten der Signaltransduktion und neuronalen Netzwerke involviert sind, sind in den letzten Jahren als potentiellen Kandidatengenen in der Ätiologie der Schizophrenie in Betracht gezogen worden. *Disrupted-in-Schizophrenia* (DISC1) hat einen entscheidenden Einfluss auf Prozessen wie neuronalem Wachstum und Migration und wurde bereits in mehreren Assoziations- und Kopplungsstudien als ein genetischer Risikofaktor für Schizophrenie, der die kognitiven Fähigkeiten der Betroffenen beeinflusst, betrachtet (Porteous et al., 2006). In einer im Jahr 2014 veröffentlichten Studie konnten Wei et al. zeigen, dass eine *in vitro* Deaktivierung von

DISC1 eine erhebliche Zunahme der CREB1-Aktivität mit sich brachte (Wei et al., 2014).

BDNF (Gama et al., 2007), NRG1 (Sei et al., 2007), Reelin (Kundakovic et al., 2007), NGF (Angelucci et al., 2007) und Dysbindin (Numakawa et al., 2004) werden als protektive Faktoren kognitiver Beeinträchtigung bei schizophrenen Patienten diskutiert. All diese Proteine, zusammen mit anderen in der Therapie der Schizophrenie benutzten Substanzen, z. B. Haloperidol (Emamian et al., 2004), Risperidon (Alimohamad et al., 2005) und Clozapin (Alimohamad et al., 2005), haben gezeigt, dass sie per PI3K (Phosphatidylinositide 3-kinase)- Signalisierung agieren. PI3K ist in zellulären Prozessen involviert, die in der Ätiologie der Schizophrenie eine zentrale Rolle spielen, wie neuronales Wachstum, Zelldifferenzierung, Zellmigration, axonales Wachstum und Zellüberleben (Brazil and Hemmings, 2001; Kalkman, 2006). Die *downstream* Targets der PI3K sind die AKT (Proteinkinase B), Glykogen Synthase Kinase (GSK3 $\beta$ ), Beta Catenin und CREB1. Diese wurden bereits in Studien in Verbindung mit der Pathophysiologie der Schizophrenie gebracht (Emamian et al., 2004; Sanders et al., 2005; Svenningsson et al., 2003; Kozlovsky, Belmaker et al., 2001). AKT ist das wichtigste *downstream* Target der PI3K. Von Forschungsgruppen um Emamian, Ikeda und Schwab durchgeführte Studien über verschiedenen Haplotypen von AKT zeigten positive Ergebnisse im Bezug auf eine Assoziation mit der Schizophrenie (Emamian et al., 2004; Ikeda et al., 2004; Schwab et al., 2005).

Während der Hirnentwicklung können genetische Faktoren die Entstehung hirnstruktureller, neurophysiologischer und/oder biochemischer Besonderheiten begünstigen. Hieraus ergibt sich eine Anfälligkeit zur Manifestation der Schizophrenie. Im Folgenden werden die Studienergebnisse, die eine Assoziation zwischen neuronaler Entwicklung, Differentiation und Überleben mit der CREB1-Aktivität belegen, näher angeführt.

Lonze et al. beobachteten Wachstumsstörungen bei transgenen nicht exprimierenden CREB1 Mäusen in der *Corpus callosum*, der *Commissura rostralis*, Peripheren- und Hirnnerven, und sympathische Ganglien. Des Weiteren wurde in den sensorischen Neuronen der dorsalen Wurzel und in dem Trigeminalganglion eine übermäßige Apoptose festgestellt. Während der Entwicklung des zentralen Nervensystems konnte ein massiver Verlust von Neuronen in mehreren Gehirnberei-



chen, einschließlich dem *Cortex*, *Hippocampus* und *Striatum*, bei Mäusen mit einer Deletion von CREB1 und CREM beobachtet werden (Lonze and Ginty, 2002).

Studien, in denen die Mitglieder der CREB1-Familie in Neuronen *in vitro* gehemmt wurden suggerieren, dass die CREB1-abhängige Genexpression sowohl notwendig als auch ausreichend für das Überleben multipler neuronaler Subtypen ist (Lonze und Ginty, 2002). Es wird gemutmaßt, die Pro-Überlebende-Wirkung von CREB1 basiert auf die Regulation der Transkription von Pro-Überleben Faktoren (Lonze und Ginty, 2002).

Weitere Studien *in vivo* und *in vitro* von sensorischen Neuronen, die von Mäusen mit deletierten CREB1 stammten, haben eine Störung des axonalen Wachstums in Abwesenheit von CREB1 gezeigt. Diese Wachstumsstörungen sind unabhängig von neuronalen Überlebensdefiziten aufgetreten. Des Weiteren korreliert die CREB1-Aktivierung mit axoninduzierten Proliferationsstörungen von Schwann-Zellen während der Entwicklung des zentralen Nervensystems (Lonze und Ginty, 2002).

Somit geben die Ergebnisse dieser Studien Hinweise auf funktionelle Mechanismen. Sie zeigen eine Assoziation zwischen dem CREB1-Gen und neuronalem Überleben und neuronaler Entwicklung, beides Prozesse, deren Beteiligung in der Pathophysiologie der Schizophrenie involviert ist. Daher kann eine Assoziation zwischen der CREB1-Aktivität, dem neuronalen Überleben, neuronaler Entwicklung und Differenzierung, und der Schizophrenie nicht ausgeschlossen werden.

### **5.2.2 Studien zum Lernen, Gedächtnis und CREB1**

Etliche Studien konnten zeigen, dass an Schizophrenie erkrankten Patienten öfters Störungen des Gedächtnisses (siehe Gedächtnis und Schizophrenie) haben. Aleman et al. stellten fest, dass diese bei an Schizophrenie Erkrankten vorliegenden Gedächtnisstörungen unabhängig von der Erkrankungsdauer, dem Schweregrad der Psychopathologie und der Positivsymptomatik waren. Zudem sind sie, so die Autoren, Alters- und Medikationsunabhängig (Aleman et al., 1999). Weitere Studien konnten die Unerlässlichkeit, sowie die Suffizienz, des CREB1-abhängigen Transkriptionspfades für die Langzeitpotenzierung zeigen (Lonze und Ginty, 2002).

CREB1-abhängige Genexpression scheint eher eine Voraussetzung als das Resultat von Lernen und Gedächtnis zu sein. Stress, Freisetzung von Neurotransmitter,

Wachstumsfaktoren und eine Depolarisation der Zellmembrane gehören zu den Stimuli, die intrazelluläre Transduktionsignalwege aktivieren und somit zu einer Aktivierung der CREB1-Abhängigen Kaskaden führen (Lonze und Ginty, 2002). Das intrahippocampale Spritzen von CREB1-Antisense-Oligonukleotiden verursacht Störungen des räumlichen Lernens in Ratten. In ähnlichen Studien wurde von der Notwendigkeit der CREB1-Signaling für Plastizität in einem *in vitro* Modell zerebellärer LTD berichtet. Diese Befunde bekräftigen ein Modell, in dem die CREB1-abhängige Genexpression ein kritischer Beitrag für das Langzeitgedächtnis und die Plastizität in Wirbeltiere ist. Daher betrachten Kandel et al. die CREB1-Aktivierung als das Zentralaktivierende Ereignis (Lonze und Ginty, 2002). Inwieweit sich die Ergebnisse aus diesen Tier- und *in vitro* Modellen auf humane Prozesse übertragen lassen, steht noch offen und muss noch geprüft werden (Lonze and Ginty, 2002).

In ihrer Studie fanden Kawanishi et al. bei einem der schizophrenen Patienten mit einer der zwei neuen CREB1-Varianten (-933T->C) zusätzlich eine intellektuelle Beeinträchtigung (IQ 54 mit dem WAIS-R Test) zu den typischen schizophrenen Symptomen wie akustische Halluzinationen und Verfolgungswahn (Kawanishi et al., 1999). Kawanishi et al. führten die intellektuelle Beeinträchtigung auf eine gestörte Langzeitgedächtnisinformation zurück, und wiesen auf die Beobachtung hin, dass CREB1-*Knock-out* Mäuse ein ausgeprägtes Defizit im Langzeitgedächtnis zeigen (Bourtchuladze et al., 1994).

Alle angeführten Studien liefern funktionelle Hinweise darauf, dass das CREB1-Gen in kognitive Prozesse, wie das Gedächtnis und Lernen, involviert ist. Da die Schizophrenie häufig mit Gedächtnisstörungen einhergeht, wird die Hypothese bestätigt, dass die CREB1-Aktivität von Bedeutung in der Ätiopathogenese von Schizophrenie sein könnte.

### 5.2.3 Studien zur Neuroprotektion und CREB1

In Nervenzellen erfolgt die Dephosphorylierung von CREB1 unter Sauerstoffmangel und oxydativen Stress. Die Aktivierung jenes CREB-abhängigen Überlebensprogramms als Reaktion auf schädliche Stimuli wird dadurch suggeriert und stellt einen zellulären Schutzmechanismus dar (Lonze und Ginty, 2002). Somit findet die Aktivierung von CREB1 nicht nur durch Prowachstum und Proüberleben Stimuli statt, sondern auch durch, mit Stress verbundene, Stimuli. Die Beobachtung, dass in einigen

Zelltypen die differentiale Empfindlichkeit auf hypoxieinduzierten Zelltod mit der Fähigkeit korreliert, die CREB-Phosphorylierung aufrecht zu erhalten, untermauert die funktionale Relevanz der CREB-Aktivierung als Stressreaktion. Ferner resultiert die temporäre Ischämie im Hippocampus in einer in CA1-Neuronen vorübergehenden, im Gyrus dentatus anhaltenden CREB-Phosphorylierung (Lonze und Ginty, 2002). Die Annahme einer direkten CREB-abhängigen Neuroprotektion im Gyrus dentatus beruht auf der Beobachtung, dass während die CA1-Neuronen nach dem ischämischen Insult dramatisch verbraucht sind, die Dentatus-Neuronen andererseits weitgehend geschont sind. In einer Vielzahl von Studien konnte gezeigt werden, dass die CREB1-Phosphorylierung im regulatorischen transkriptionellen Ser133-Bereich (in dem CREB1 phosphoryliert wird) in Neuronen ein sehr wichtiger Mechanismus ischämischer Toleranz ist (Lonze und Ginty, 2002).

Die Ergebnisse dieser Studien geben Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem CREB-Gen und der Neuroprotektion. Eine Hirnentwicklungsstörung im Rahmen von pränatalen und perinatalen Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen (z.B. zerebrale Hypoxie), die mit Reifungsprozessen und Hirnentwicklungsprozessen wie die Bildung von Axonen, Entwicklung von Synapsen und Apoptose in kausaler Relation steht, wird als zugrundeliegende Ursache struktureller Hirnveränderungen bei schizophrenen Patienten diskutiert (Lonze und Ginty, 2002). Aus diesem Grund kann eine Assoziation zwischen dem ausfallenden neuroprotektiven Effekt des CREB1-Gens und der zur Schizophrenie führenden Pathomechanismen nicht ausgeschlossen werden.

Eine potentielle Erklärung der bisher ausgebliebenen Identifikation eines Hauptgens in der Pathophysiologie der Schizophrenie könnte sein, dass der Einfluss auf den Phänotyp nicht von einzelnen Polymorphismen in einem Gen getragen wird, sondern die Interaktion verschiedener Varianten die entscheidende Rolle spielt. Es wird vor allem aber auch ersichtlich, dass Abweichungen in den intrazellulären Signalwegen, besonders in solchen, die in der synaptischen Transmission und Plastizität involviert sind, potentiell eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen.

### 5.3 Ausblick

Die Untersuchung von Genen in Bezug auf ihre kausale Beziehung mit dem Phänotyp Schizophrenie kann als erster Schritt betrachtet werden, um den Einfluss von Genen auf psychiatrischen Erkrankungen zu verstehen. Die individuellen menschlichen Merkmale werden von diesen Genprodukten, und deren Interaktion mit den Umweltfaktoren, determiniert. Das Verständnis der Funktion von Genprodukten in Gehirnprozessen hat in den letzten Jahren zugenommen. Das zunehmende Verständnis der der Schizophrenie zugrunde liegender Pathophysiologie, könnte dazu beitragen, neuartige, spezifische Therapien zu entwickeln und letztendlich zur deren Prävention führen. Wenn aufgrund von Studien vermutet werden kann, dass eine Assoziation zwischen einer genetischen Variation und einer bestimmten Krankheit vorliegt, kann anschließend untersucht werden, ob diese Variation funktionell relevant ist.

Die Beteiligung des CREB1-Gens an der Pathogenese der Schizophrenie durch molekulargenetischen Untersuchungen konnte bis dato nicht zweifellos nachgewiesen werden. Die bisherigen Resultate waren entweder negativ, wie für drei der Polymorphismen in der vorliegenden Studie, oder positiv, wie in der Studie von Kawanishi et al. Die vorliegende Arbeit hat die Ergebnisse der Studie von Kawanishi et al. im Bezug auf den Polymorphismen des CREB1-Gens und der Schizophrenie, zumindest der Lage innerhalb des Gens (Promoterregion) betreffend, bestätigen können. Die Identifizierung des Einzelnukleotidpolymorphismes in der vorliegenden Studie, der signifikant mit der Schizophrenie assoziiert ist, kann als Anregung zur Durchführung weiterer Untersuchungen zur Validierung dieser Polymorphismen betrachtet werden.

Die zentrale Rolle des CREB1-Gens in der Transkription einer Vielzahl von Genen (Dopamin D1 Rezeptor, Serotonintransporter, Tyrosinhydroxylase, Synapsin), die bereits in Verbindung mit der Schizophrenie gebracht worden sind, sowie seine Beteiligung an der Hirnentwicklung, der Neuroplastizität, der Lernprozesse und an der Neuroprotektion, lässt es weiterhin als interessantes Suszeptibilitätsgeerscheinen. Die Durchführung weiterer unabhängigen Studien zum eindeutigen Nachweis der Beteiligung des CREB1-Gens an der Pathogenese der Schizophrenie ist anzustreben.

Bei den weiteren Replikationsstudien von Polymorphismen des CREB1-Genes und deren potentieller Beziehung mit der Schizophrenie ist auf eine exakte und sichere

Diagnose der Patienten zu achten. Die Durchführung weiterer Untersuchungen in Populationen sowohl mit gleichen als auch mit einem unterschiedlichen ethnischen Hintergrund zur Überprüfung der Ergebnisse ist anzustreben. Die Assoziation der Polymorphismen in derselben ethnischen Studienpopulation zu replizieren, würde eine falsche positive Assoziation ausschließen. Durch die Untersuchung der Polymorphismen in anderen ethnischen Populationen könnten Hinweise erbracht werden, ob diese SNPs populationsspezifisch mit der Erkrankung assoziiert sind.

Die Auswirkung der SNPs wird erst durch die Interaktion untereinander deutlich; ein einzelner SNP übt hierbei häufig einen quantitativ geringen Einfluss aus. Ob und inwiefern ein einzelner in vitro analysierter SNP funktionell relevant ist, wird aus dem Grund kritisch bewertet, wenn andere SNPs im selbigen Gen Einfluss in der Funktion nehmen könnten. Ein summierender Effekt von mehreren Polymorphismen erscheint als möglich. Plausibel wäre auch die Existenz von Allelen, die protektiv wirken könnten. Die Interaktion potentieller Polymorphismen, die sich in einem Gen befinden, findet in der Haplotypenanalyse Berücksichtigung. Dadurch werden die potentiellen Interaktionen aussagekräftiger oder sie können aufgedeckt werden. Dass die Ergebnisse genetischer Studien von komplexen psychischen Störungen wie bei der Schizophrenie fehlinterpretiert oder häufig nicht reproduziert werden könnten, könnte vermutlich auch deshalb daran liegen, dass SNPs einzeln und getrennt untersucht werden

Es wird vermutet, dass die bis dato identifizierten Vulnerabilitätsgene nicht in Konkurrenz stehen. Es wird vielmehr eine Interaktion dieser miteinander vermutet. Die Bedeutung von Interaktionen zwischen mehreren Genen für die Entstehung von komplexen Erkrankungsbildern wie essentielle Hypertonie, Mammakarzinom, Diabetes mellitus Typ II und Vorhofflimmern wurde bereits in einigen Studien festgestellt (Cho et al., 2004; Tsai et al., 2004; Ritchie et al., 2001).

Die genetische Diversität der Schizophrenie ist maßgebend dafür verantwortlich, dass das Forschen, der Molekulargenetik betreffend, der Krankheitsentstehung komplex und schwierig ist. Man hat versucht, die Ätiologie der Erkrankung zu homogenisieren. Hierbei wurden die schizophrenen Psychosen klinisch-pathologisch subtypisiert. Dies führte jedoch nicht zu den erwünschten Ergebnissen (Jablensky 2006; Fanous und Kendler 2008). Eine weitere potentielle Annäherung wäre, die neuropsychologischen und neurophysiologischen Normabweichungen zu erfassen. Ziel hier-

bei wäre Endophenotypen zu definieren, Schizophrene Störungen bei Personen im Risikoalter früh zu erkennen um therapeutisch früh zu intervenieren, könnte durch die Identifikation dieser genetischen Vulnerabilitätsfaktoren klinische Relevanz erreichen. Neben genetischen Veränderungen müssen dabei in Zukunft auch epigenetische Faktoren, die bislang nur wenig erforscht sind, mit berücksichtigt werden.

Ziel der molekulargenetischen Forschung muss es sein, die funktionellen Auswirkungen von Risikoallelen- und Haplotypen auf die Genfunktion sowie das Ausmaß des Anteils des CREB1-Gens an der Suszeptibilität der Schizophrenie abzuklären. Dies ist nur mit einer konsequenten Fortsetzung der Suche nach weiteren Suszeptibilitätsgenen zu erreichen, sowie mit der weiteren Erforschung der Interaktionen des CREB1-Gens mit der Umwelt und mit anderen Genen. Langfristig sind eine zuverlässigere Diagnose, sowie die auf den einzelnen Patienten orientierte Therapie und die Einführung präventiver Maßnahmen gegen den Ausbruch der Schizophrenie bei Trägern von Risikoallelen oder bestehender familiärer Vorbelastung anzustreben.

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
3-HPA	3-Hydroxypicolinsäure
ACSM1-Gen	Acyl-CoA synthetase medium-chain 1
ANK3-Gen	Ankyrin-3
APBA2	Amyloid beta A4 precursor protein-binding A2
ATF-1	activating transcription factor 1
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
bZIP	basic region-leucine zipper
cAMP	zyklische Adenosinmonophosphat
CBP-Gene	CREB1-Binding-Protein-Gene
CNV	copy number variants
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CRE	cAMP-Response-Elemente
CREB1	cAMP response element binding protein
CREM	cAMP response element modulator
DARPP-32	Dopamin und Adenosin 3',5'-monophosphate-regulierte Phosphoprotein
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1
DLPFC	dorsolateralen präfrontalen Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRD2	Dopamine Receptor D2
DSM-V	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fifth Edition) der American Psychiatric Association
DTNBP1	Dystrobrevin Binding Protein 1
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GRIN2	glutamate receptor ionotropic delta-2
GSK	Glykogen Synthase Kinase
GSMA	genome scan meta-analysis
GWAS	genome-wide association studies

Abkürzung	Erklärung
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (10 revision) der WHO
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY
kb	Kilobasen
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight System
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
Mb	Mega-Basenpaar
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIR137	microRNA 137
mRNA	Boten- Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MSP	Multiple scan probability
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NGF	Neuro Growing Factor
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRG1	Neuregulin 1
NRGN	Neurograninen
NRXN1	Neurexin 1
PCR	Polymerase- Kettenreaktion
PI-3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PLAA-Gen	Phospholipase A-2-activating protein
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisms
RSG4	Regulator of G protein signaling 4
RSK-2	Ribosomal 6 Kinase-2
SKID I / II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	single nucleotide polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
SSCP-Analyse	Single Strand Conformation Polymorphism-Analyse
STRs	short tandem repeats



Abkürzung	Erklärung
VNTR	variable number tandem repeats
WHO	Weltgesundheitsorganisation
Zerebelläre LTD	zerebelläre Langzeitdepression
ZNF804A	Zinc finger protein 804A

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	Übersicht der involvierten Signalwegen in der Interaktion zwischen BDNF und CREB1.....	26
Abb. 1.2:	Übersicht der Signalwege, die in CREB1 zusammenlaufen (Lonze und Ginty, 2002).....	29
Abb. 1.3:	CREB1-Abhängige Genexpression und ihre Rolle bei der Entwicklung und Reifung des zentralen Nervensystems. ....	31
Abb. 4.1:	Graphische Darstellung der Allelverteilung des SNPs rs2253206 in der Kontroll- und Patientengruppe.....	56

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1:	Diagnostische Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 und DSM-IV entsprechend der Gliederung von Möller et al., 2001 .....	5
Tab. 1.2:	Subtypen in der Schizophrenie (nach DSM-IV) .....	7
Tab. 1.3:	Übersicht über chromosomale Loci aus Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie mit Angabe von Kandidatengenen (Remschmidt und Theisen 2011). .....	17
Tab. 3.1:	Anzahl der in den Analysen der verwertbaren Patienten bzw. der verwertbaren Kontrollprobanden. Die Anzahl der Patienten bzw. der Kontrollprobanden wird jeweils pro SNP angegeben .....	41
Tab. 3.2:	Materialien, Reagenzien und Geräte zur DNA-Extraktion .....	45
Tab. 3.3:	Eingesetzte Primers .....	48
Tab. 3.4:	Information über die zu untersuchenden SNPs .....	49
Tab. 4.1:	Tabellarische Ansicht der Allelverteilung des Polymorphismus rs2709376. ....	53
Tab. 4.2:	Berechnung des Hardy-Weinberg-Wertes für den SNP rs2709376 des CREB1-Gens .....	53
Tab. 4.3:	Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2709376. ....	54
Tab. 4.4:	Darstellung der Häufigkeit der C-Träger bzw. Gegenüberstellung mit den homozygoten Trägern für das T-Allel des Polymorphismus rs2709376. ....	54
Tab. 4.5:	Häufigkeitsdarstellung der Allel-Träger im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das C-Allel des Polymorphismus rs2709376. ....	55
Tab. 4.6:	Zusammenstellung der Allelverteilung des Markers rs2253206. ....	55
Tab. 4.7:	Darstellung der Hardy-Weinberg-Wert-Berechnung für den SNP rs2253206 des CREB1-Gens .....	56
Tab. 4.8:	Tabellarische Darstellung der Genotypverteilung des Markers rs2253206. ....	56
Tab. 4.9:	Häufigkeitsdarstellung der Träger des A-Allels im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das G-Allel des Markers rs2253206. ....	57
Tab. 4.10:	Häufigkeitsdarstellung der G-Träger (Genotypen 2 und 3) im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das A-Allel (Genotyp 1) des Markers rs2253206. ....	57
Tab. 4.11:	Tabellarische Darstellung der Verteilung des Allels innerhalb des Polymorphismus rs2551640. ....	58

Tab. 4.12:	Tabellarische Darstellung der Verteilung des Genotyps vom Polymorphismus rs2551640. ....	59
Tab. 4.13:	Häufigkeitsdarstellung der Träger des A-Allels im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das G-Allel des Polymorphismus rs2551640. ....	59
Tab. 4.14:	Darstellung der Häufigkeit der G-Allel-Träger im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das A-Allel des Polymorphismus rs2551640. ....	60
Tab. 4.15:	Darstellung der Verteilung der Allele des Polymorphismus rs2709356. ....	60
Tab. 4.16:	Darstellung der Hardy-Weinberg-Wert-Berechnung für den SNP rs2709356 des CREB1-Gens. ....	61
Tab. 4.17:	Darstellung der Verteilung des Genotyps im Polymorphismus rs2709356. ....	61
Tab. 4.18:	Häufigkeitsdarstellung der Träger des C-Allels gegenüber den homozygoten Trägern für das T-Allel des Polymorphismus rs2709356. ....	62
Tab. 4.19:	Häufigkeitsdarstellung der T-Allel-Träger gegenüber den homozygoten Trägern für das C-Allel des Polymorphismus rs2709356. ....	62
Tab. 5.1:	Genotypfrequenzen des SNPs rs2253206 in verschiedenen Populationen. ....	67

## Literaturverzeichnis

- Abarbanel H. D., Gibb L., Huerta R., Rabinovich M.I. "Biophysical model of synaptic plasticity dynamics." *Biol.Cybern.* 89.3 (2003): 214-26.
- Adamec R. E., J. Blundell, and P. Burton. "Relationship of the predatory attack experience to neural plasticity, pCREB expression and neuroendocrine response." *Neurosci.Biobehav.Rev.* 30.3 (2006): 356-75.
- Agartz I., Sedvall G.C., Terenius L., Kulle B., Frigessi A., Hall H., Jönsson E.G. "BDNF gene variants and brain morphology in schizophrenia." *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 141B.5 (2006): 513-23.
- Ahn, S., D. D. Ginty, and D. J. Linden. "A late phase of cerebellar long-term depression requires activation of CaMKIV and CREB." *Neuron* 23.3 (1999): 559-68.
- Akbarian S., Kim J.J., Potkin S.G., Hagman J.O., Tafazzoli A., Bunney W.E. Jr., Jones E.G. "Gene expression for glutamic acid decarboxylase is reduced without loss of neurons in prefrontal cortex of schizophrenics." *Arch.Gen.Psychiatry* 52.4 (1995): 258-66.
- Alberini, C. M. "Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes?" *Trends Neurosci.* 28.1 (2005): 51-56.
- Alberini, C. M. "The role of protein synthesis during the labile phases of memory: revisiting the skepticism." *Neurobiol.Learn.Mem.* 89.3 (2008): 234-46.
- Alberini, C. M. "Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity." *Physiol Rev.* 89.1 (2009): 121-45.
- Alberini C.M, Ghirardi M., Metz R., Kandel E.R. "C/EBP is an immediate-early gene required for the consolidation of long-term facilitation in *Aplysia*." *Cell* 76.6 (1994): 1099-114.
- Aleman A., Hijman R., de Haan E.H., Kahn R.S. "Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis." *Am.J.Psychiatry* 156.9 (1999): 1358-66.
- Alimohamad H., Rajakumar N., Seah Y.H., Rushlow W. "Antipsychotics alter the protein expression levels of beta-catenin and GSK-3 in the rat medial prefrontal cortex and striatum." *Biol.Psychiatry* 57.5 (2005): 533-42.
- Allen, H. A., P. F. Liddle, and C. D. Frith. "Negative features, retrieval processes and verbal fluency in schizophrenia." *Br.J.Psychiatry* 163 (1993): 769-75.
- Ando, J., Y. Ono, and M. J. Wright. "Genetic structure of spatial and verbal working memory." *Behav.Genet.* 31.6 (2001): 615-24.
- Andreasen, N. C. and S. Olsen. "Negative v positive schizophrenia. Definition and validation." *Arch.Gen.Psychiatry* 39.7 (1982): 789-94.

- Andreasen N. C. " Schizophrenia: the fundamental questions." *Brain Res Brain Res Rev.* 31 2000: 106-12.
- Angelucci F., Gruber S.H., El Khoury A., Tonali P.A., Mathé A.A. "Chronic amphetamine treatment reduces NGF and BDNF in the rat brain." *Eur.Neuropsychopharmacol.* 17.12 (2007): 756-62.
- Antonova E., Sharma T., Morris R., Kumari V. "The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review." *Schizophr. Res.* 70.2-3 (2004): 117-45.
- Arnsten, A. F. (2011). Prefrontal cortical network connections: key site of vulnerability in stress and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci*, 29(3), 215-223.
- Atluri G, Padmanabhan K, Fang G, Steinbach M, Petrella JR, Lim K, Macdonald A, 3rd, Samatova NF, Doraiswamy PM, Kumar V. 2013. Complex biomarker discovery in neuroimaging data: finding a needle in a haystack. *Neuroimage Clin.* 3:123–131.
- Baddeley A. (1998): Working memory. *Life Sciences* 321: 167-173.
- Badner, J. A. and E. S. Gershon. "Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia." *Mol.Psychiatry* 7.4 (2002): 405-11.
- Barch, D.M. "What can research on schizophrenia tell us about the cognitive neuroscience of working memory?" *Neuroscience* 139.1 (2006): 73-84.
- Barch D.M., Sheline Y.I., Csernansky J.G., Snyder A.Z. "Working memory and prefrontal cortex dysfunction: specificity to schizophrenia compared with major depression." *Biol.Psychiatry* 53.5 (2003): 376-84.
- Barco, A., J. M. Alarcon, and E. R. Kandel. "Expression of constitutively active CREB protein facilitates the late phase of long-term potentiation by enhancing synaptic capture." *Cell* 108.5 (2002): 689-703.
- Barnes T.R., Hutton S.B., Chapman M.J., Mutsatsa S., Puri B.K., Joyce E.M. "West London first-episode study of schizophrenia. Clinical correlates of duration of untreated psychosis." *Br.J.Psychiatry* 177 (2000): 207-11.
- Barrett, J. C. and L. R. Cardon. "Evaluating coverage of genome-wide association studies." *Nat.Genet.* 38.6 (2006): 659-62.
- Bartsch, D., Casadio A., Karl K.A., Serodio P., Kandel E.R. "CREB1 encodes a nuclear activator, a repressor, and a cytoplasmic modulator that form a regulatory unit critical for long-term facilitation." *Cell* 95.2 (1998): 211-23.
- Bartsch, D., Casadio A., Karl K.A., Serodio P., Kandel E.R. "Aplysia CREB2 represses long-term facilitation: relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change." *Cell* 83.6 (1995): 979-92.

- Bayer TA, Falkai P, Maier W. "Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". J Psychiatr Res. 33 (1999): 543-8.
- Beitner-Johnson, D., J. Leibold, and D. E. Millhorn. "Hypoxia regulates the cAMP- and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin signaling systems in PC12 cells." Biochem.Biophys. Res.Comm. 242.1 (1998): 61-66.
- Benes, F. M. and S. Berretta. "GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder." Neuropsychopharmacology 25.1 (2001): 1-27.
- Berke, J. D. and S. E. Hyman. "Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory." Neuron 25.3 (2000): 515-32.
- Bickeböller H, Fischer C (2007): Einführung in die Genetische Epidemiologie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
- Bilder, R. M., Goldman R.S., Robinson D., Reiter G., Bell L., Bates J.A., Pappadopulos E., Willson D.F., Alvir J.M., Woerner M.G., Geisler S., Kane J.M., Lieberman J.A. "Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates." Am.J.Psychiatry 157.4 (2000): 549-59.
- Birbaumer N., Schmidt R.F. (1996): Biologische Psychologie. *Springer- Verlag, Berlin*; S.15-35.
- Black, J. E., Kodish I.M., Grossman A.W., Klintsova A.Y., Orlovskaya D., Vostrikov V., Uranova N., Greenough W.T. "Pathology of layer V pyramidal neurons in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia." Am.J.Psychiatry 161.4 (2004): 742-44.
- Blendy, J. A. "The role of CREB in depression and antidepressant treatment." Biol.Psychiatry 59.12 (2006): 1144-50.
- Blendy, J. A. and R. Maldonado. "Genetic analysis of drug addiction: the role of cAMP response element binding protein." J.Mol.Med. 76.2 (1998): 104-10.
- Bleuler, E. (1911) Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien. In Aschaffenburg, G. (ed.), *Handbuch der Psychiatrie*, Verlag Deuticke, Leipzig.
- Bliss, T. V. and G. L. Collingridge. "A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus." Nature 361.6407 (1993): 31-39.
- Bolton, M. M., A. J. Pittman, and D. C. Lo. "Brain-derived neurotrophic factor differentially regulates excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal cultures." J.Neurosci. 20.9 (2000): 3221-32.
- Bonni, A., Brunet A., West A.E., Datta S.R., Takasu M.A., Greenberg M.E. "Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by transcription-dependent and -independent mechanisms." Science 286.5443 (1999): 1358-62.

- Borgwardt, Stefan J.(Emrich, H. M.). "Neurokognitive Defizite bei Schizophrenien", Medizinische Fakultät - Universitätsklinikum Charité, 2004
- Boteva K, Lieberman J (2003): Reconsidering the classification of schizophrenia and manic depressive illness – a critical analysis and new conceptual model. *World J Biol Psychiatry* 4(2): 81–92
- Bourque, F., van der Ven, E. and Malla, A. "A meta-analysis of the risk for psychotic disorders among first-and second-generation immigrants." *Psychol Med*, 41, (2011): 897-910.
- Bourtchuladze, R., Frenguelli B., Blendy J., Cioffi D., Schutz G., Silva A.J. "Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein." *Cell* 79.1 (1994): 59-68.
- Bowie, C. R. and P. D. Harvey. "Cognition in schizophrenia: impairments, determinants, and functional importance." *Psychiatr.Clin.North Am.* 28.3 (2005): 613-33, 626.
- Boydell, J., van Os, J., McKenzie, K., Allardyce, J., Goel, R., McCreadie, R.G. & Murray, R.M. "Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment." *Bmj*, 323, (2001): 1336-1338
- Brazil, D. P. and B. A. Hemmings. "Ten years of protein kinase B signalling: a hard Akt to follow." *Trends Biochem.Sci.* 26.11 (2001): 657-64.
- Broadbelt, K., W. Byne, and L. B. Jones. "Evidence for a decrease in basilar dendrites of pyramidal cells in schizophrenic medial prefrontal cortex." *Schizophr.Res.* 58.1 (2002): 75-81.
- Bromet, E.J., Naz, B., Fochtmann, L.J., Carlson, G.A., Tanenberg-Karant, M. "Long-term diagnostic stability and outcome in recent first-episode cohort studies of schizophrenia." *Schizophr Bull*, 31 (2005): 639-649.
- Brown AS, Cohen P, Harkavy-Friedman J, Babulas V, Malaspina D, Gorman JM, Susser ES. "Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia." *Biol Psychiatry* 49 (2001): 473-86.
- Brown AS, Schaefer CA, Quesenberry CP Jr, Liu L, Babulas VP, Susser ES. "Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring." *Am J Psychiatry* 162 (2005): 767-73.
- Brown, A.S. "The environment and susceptibility to schizophrenia." *Prog. Neurobiol.* 93, (2011): 23-58.
- Brozoski, T. J., Brown R.M., Rosvold H.E., Goldman P.S. "Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey." *Science* 205.4409 (1979): 929-32.
- Brunet A, Datta SR, Greenberg ME. 2001. Transcription-dependent and -independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Curr Opin Neurobiol* 11:297–305.



- Cahn W, Hulshoff Pol HE, Lems EB, van Haren NE, Schnack HG, van der Linden JA, Schothorst PF, van Engeland H, Kahn RS (2002): Brain volume changes in first-episode schizophrenia: a 1-year follow-up study. *Arch Gen Psychiatry* 59(11): 1002–1010
- Cahn W, van Haren NE, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Caspers E, Laponder DA, Kahn RS (2006): Brain volume changes in the first year of illness and 5-year outcome of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 189: 381–382
- Calabrese P., Markowitsch H.J. (2003): Memory and brain - Neurobiological correlates of memory disturbances. *Fortschritte der Neurologie - Psychiatrie (FDN)* 71: 211-219.
- Callicott, J. H., Mattay V.S., Verchinski B.A., Marenco S., Egan M.F., Weinberger D.R. "Complexity of prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia: more than up or down." *Am.J.Psychiatry* 160.12 (2003): 2209-15.
- Cannon, T. D, Glahn D.C., Kim J., Van Erp T.G., Karlsgodt K., Cohen M.S., Nuechterlein K.H., Bava S., Shirinyan D. "Dorsolateral prefrontal cortex activity during maintenance and manipulation of information in working memory in patients with schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 62.10 (2005): 1071-80.
- Cannon M, Caspi A, Moffitt TE, Harrington H, Taylor A, Murray RM, Poulton R (2002) Evidence for early-childhood, pan-developmental impairment specific to schizophreniform disorder: results from a longitudinal birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* 59(5):449-56.
- Cannon, T. D., Kaprio J., Lönngqvist J., Huttunen M., Koskenvuo M. "The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study." *Arch.Gen.Psychiatry* 55.1 (1998): 67-74.
- Cantor-Graae, E. and Selten, J.P. "Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review." *Am J Psychiatry*, 162, (2005): 12-24
- Cardno, A. G. and I. I. Gottesman. "Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics." *Am.J.Med.Genet.* 97.1 (2000): 12-17.
- Cardno, A. G., , Marshall E.J., Coid B., Macdonald A.M., Ribchester T.R., Davies N.J., Venturi P., Jones L.A., Lewis S.W., Sham P.C., Gottesman I.I., Farmer A.E., McGuffin P., Reveley A.M., Murray R.M. "Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series." *Arch.Gen.Psychiatry* 56.2 (1999): 162-68.
- Cardon L.R., Bell J.I. (2001): Association study designs for complex diseases. *Nature Reviews Genetics, Band 2*, 91-99.
- Cardon L.R., Palmer L.J. (2003): Population stratification and spurious allelic association. *The Lancet, Heft 361*, 598-604.
- Carlsson, A. "The neurochemical circuitry of schizophrenia." *Pharmacopsychiatry* 39 Suppl 1 (2006): S10-S14.

- Casadio, A., Martin K.C., Giustetto M., Zhu H., Chen M., Bartsch D., Bailey C.H., Kandel E.R. "A transient, neuron-wide form of CREB-mediated long-term facilitation can be stabilized at specific synapses by local protein synthesis." *Cell* 99.2 (1999): 221-37.
- Caspi, A., Reichenberg, A., Weiser, M., Rabinowitz, J., Kaplan, Z., Knobler, H., Davidson-Sagi, N., Davidson, M. (2003). Cognitive performance in schizophrenia patients assessed before and following the first psychotic episode. *Schizophr Res*, 65(2-3), 87-94.
- Chan, T. O., S. E. Rittenhouse, and P. N. Tsichlis. "AKT/PKB and other D3 phosphoinositide-regulated kinases: kinase activation by phosphoinositide-dependent Phosphorylierung." *Annu.Rev.Biochem.* 68 (1999): 965-1014.
- Chen, A. C., Shirayama Y., Shin K.H., Neve R.L., Duman R.S. "Expression of the cAMP response element binding protein (CREB) in hippocampus produces an antidepressant effect." *Biol.Psychiatry* 49.9 (2001): 753-62.
- Chen MJ, Russo-Neustadt AA. "Running exercise-induced up-regulation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor is CREB-dependent". *Hippocampus*. (2009) Oct; 19(10):962-72. doi: 10.1002/hipo.20579.
- Chen, Z., Simmons M.S., Perry R.T., Wiener H.W., Harrell L.E., Go R.C. "Genetic association of neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2 (NTRK2) With Alzheimer's disease." *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 147.3 (2008): 363-69.
- Chen, Z. Y., Patel P.D., Sant G., Meng C.X., Teng K.K., Hempstead B.L., Lee F.S. "Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons." *J.Neurosci.* 24.18 (2004): 4401-11.
- Cho, Y. M., Ritchie M.D., Moore J.H., Park J.Y., Lee K.U., Shin H.D., Lee H.K., Park K.S. "Multifactor-dimensionality reduction shows a two-locus interaction associated with Type 2 diabetes mellitus." *Diabetologia* 47.3 (2004): 549-54.
- Chowdari, K. V., Bamne M., Wood J., Talkowski M.E., Mirnics K., Levitt P., Lewis D.A., Nimgaonkar V.L. "Linkage disequilibrium patterns and functional analysis of RGS4 polymorphisms in relation to schizophrenia." *Schizophr.Bull.* 34.1 (2008): 118-26.
- Cichon, S., Craddock, N., Daly, M., Faraone, S. V., Gejman, P. V., Kelsoe, J., Lehner, T., Levinson, D. F., Moran, A., Sklar, P., Sullivan, P. F. (2009). Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*, 166(5), 540-556.
- Clare, L., McKenna P.J., Mortimer A.M., Baddeley A.D. "Memory in schizophrenia: what is impaired and what is preserved?" *Neuropsychologia* 31.11 (1993): 1225-41.

- Cloninger, C. R. "The discovery of susceptibility genes for mental disorders." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 99.21 (2002): 13365-67.
- Cohen CI, Palekar N, Barker J, Ramirez PM (2012): The relationship between trauma and clinical outcome variables among older adults with schizophrenia spectrum disorders. *Am J Psychiatry* 20(5): 408-415
- Comer, R.J. (2001). *Klinische Psychologie*. 2. deutsche Auflage. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
- Conti, A. C., Cryan J.F., Dalvi A., Lucki I., Blendy J.A. "cAMP response element-binding protein is essential for the upregulation of brain-derived neurotrophic factor transcription, but not the behavioral or endocrine responses to antidepressant drugs." *J.Neurosci.* 22.8 (2002): 3262-68.
- Colhoun H.M., McKeigue P.M., Smith G.D. (2003): Problems of reporting genetic association with complex outcomes. *The Lancet, Band 361*, 865-872.
- Crisafulli C, Chiesa A, Han C, Lee SJ, Shim DS, Balzarro B, Andrisano C, Sidoti A, Patkar AA, Pae CU, Serretti A. Possible influence of CREB1, CREBBP and CREM variants on diagnosis and treatment outcome in patients with schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2012 Feb 2;508(1):37-41. doi: 10.1016/j.neulet.2011.12.013. Epub 2011 Dec 17.
- Dash, P. K., Karl K.A., Colicos M.A., Prywes R., Kandel E.R. "cAMP response element-binding protein is activated by Ca<sup>2+</sup>/calmodulin- as well as cAMP-dependent protein kinase." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 88.11 (1991): 5061-65.
- Daskalakis, Z. J., Christensen B.K., Chen R., Fitzgerald P.B., Zipursky R.B., Kapur S. "Evidence for impaired cortical inhibition in schizophrenia using transcranial magnetic stimulation." *Arch.Gen.Psychiatry* 59.4 (2002): 347-54.
- Davidson, M., Harvey P.D., Powchik P., Parrella M., White L., Knobler H.Y., Losonczy M.F., Keefe R.S., Katz S., Frecska E. "Severity of symptoms in chronically institutionalized geriatric schizophrenic patients." *Am.J.Psychiatry* 152.2 (1995): 197-207.
- Davies, G., Welham J., Chant D., Torrey E.F., McGrath J. "A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia." *Schizophr.Bull.* 29.3 (2003): 587-93.
- Davis, H. P. and L. R. Squire. "Protein synthesis and memory: a review." *Psychol.Bull.* 96.3 (1984): 518-59.
- Davis, K. L., Kahn R.S., Ko G., Davidson M. "Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization." *Am.J.Psychiatry* 148.11 (1991): 1474-86.
- Davis, S., Vanhoutte P., Pages C., Caboche J., Laroche S. "The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus in vivo." *J.Neurosci.* 20.12 (2000): 4563-72.

- Dawson, T. M. and D. D. Ginty. "CREB family transcription factors inhibit neuronal suicide." *Nat.Med.* 8.5 (2002): 450-51.
- De Cesare, D., G. M. Fimia, and P. Sassone-Corsi. "Signaling routes to CREM and CREB: plasticity in transcriptional activation." *Trends Biochem.Sci.* 24.7 (1999): 281-85.
- Deak, M., Clifton A.D., Lucocq L.M., Alessi D.R. "Mitogen- and stress-activated protein kinase-1 (MSK1) is directly activated by MAPK and SAPK2/p38, and may mediate activation of CREB." *EMBO J.* 17.15 (1998): 4426-41.
- Deary, I. J. "Differences in mental abilities." *BMJ* 317.7174 (1998): 1701-03.
- Deisseroth, K., H. Bito, and R. W. Tsien. "Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB Phosphorylierung during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity." *Neuron* 16.1 (1996): 89-101.
- DeLisi LE (2008): The effect of cannabis on the brain: can it cause brain anomalies that lead to increased risk for schizophrenia? *Curr Opin Psychiatry* 21(2): 140-150
- Dempster, E., Touloupoulou T., McDonald C., Bramon E., Walshe M., Filbey F., Wickham H., Sham P.C., Murray R.M., Collier D.A. "Association between BDNF val66 met genotype and episodic memory." *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 134B.1 (2005): 73-75.
- Derntl B, Habel U. 2011. Deficits in social cognition: a marker for psychiatric disorders? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 261:S145–S149.
- Dickinson, D., Ragland J.D., Calkins M.E., Gold J.M., Gur R.C. "A comparison of cognitive structure in schizophrenia patients and healthy controls using confirmatory factor analysis." *Schizophr.Res.* 85.1-3 (2006): 20-29.
- Dickinson, D., M. E. Ramsey, and J. M. Gold. "Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 64.5 (2007): 532-42.
- Diefendorf AR (1902) *Clinical Psychiatry, a Text-Book for Students and Physicians Abstracted and Adapted from the Sixth German Edition of Kraepelin's 'Lehrbuch der Psychiatrie'*. New York: Macmillan.
- Dohrenwend, B. P., Levav, I., Shrout, P. E., Schwartz, S., Naveh, G., Link, B. G., Skodol, A. E., Stueve, A. (1992). Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science*, 255(5047), 946-952.
- Dragomir, B. I., et al. (2010). P.3.b.004 Advanced paternal age generates higher risk for schizophrenia than for alcohol addiction. *European Neuropsychopharmacology*, 20(Supplement 3), S454-S454.
- Dubertret, C. , Gorwood P., Gouya L., Deybach J.C., Adès J. "Association and excess of transmission of a DRD2 haplotype in a sample of French schizophrenic patients." *Schizophr.Res.* 49.1-2 (2001): 203-12.

- Dubertret, C. , Gouya L., Hanoun N., Deybach J.C., Adès J., Hamon M., Gorwood P. "The 3' region of the DRD2 gene is involved in genetic susceptibility to schizophrenia." *Schizophr.Res.* 67.1 (2004): 75-85.
- Dudai, Y. "The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram?" *Annu.Rev.Psychol.* 55 (2004): 51-86.
- Duncan, J., Seltz R.J., Kolodny J., Bor D., Herzog H., Ahmed A., Newell F.N., Emslie H. "A neural basis for general intelligence." *Science* 289.5478 (2000): 457-60.
- Dwivedi, Y. , Rao J.S., Rizavi H.S., Kotowski J., Conley R.R., Roberts R.C., Tamminga C.A., Pandey G.N. "Abnormal expression and functional characteristics of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein in postmortem brain of suicide subjects." *Arch.Gen.Psychiatry* 60.3 (2003): 273-82.
- Dworkin, R. H. , Lenzenweger M.F., Moldin S.O., Skillings G.F., Levick S.E. "A multidimensional approach to the genetics of schizophrenia." *Am.J.Psychiatry* 145.9 (1988): 1077-83.
- Eaton, W. W., Mortensen, P.B. and Frydenberg, M. "Obstetric factors, urbanization and psychosis." *Schizophr Res*, 43, (2000): 117-123.
- Ebert, D.; Loew, T. (2005). *Psychiatrie systematisch*. 6. Auflage. Bremen: Uni-Med Verlag AG.
- Egan, M. F., Goldberg, T. E., Gscheidle, T., Weirich, M., Rawlings, R., Hyde, T. M., Bigelow, L., Weinberger, D. R. (2001). Relative risk for cognitive impairments in siblings of patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 50(2), 98-107.
- Egan, M. F. , Kojima M., Callicott J.H., Goldberg T.E., Kolachana B.S., Bertolino A., Zaitsev E., Gold B., Goldman D., Dean M., Lu B., Weinberger D.R. "The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function." *Cell* 112.2 (2003): 257-69.
- Einat H, Yuan P, Gould TD, Li J, Du J, Zhang L, Manji HK, Chen G. 2003. The role of the extracellular signal-related kinase signaling pathway in mood modulation. *J Neurosci* 23:7311–7316.
- Elvevag, B., J. E. Fisher, and T. E. Goldberg. "Probed recall for serial order deficits in short-term memory in schizophrenic patients." *Schizophr.Res.* 59.2-3 (2003): 127-35.
- Elvevag, B. , Fisher J.E., Gurd J.M., Goldberg T.E. "Semantic clustering in verbal fluency: schizophrenic patients versus control participants." *Psychol.Med.* 32.5 (2002): 909-17.
- Elvevag, B., Weickert T., Wechsler M., Coppola R., Weinberger D.R., Goldberg T.E. "An investigation of the integrity of semantic boundaries in schizophrenia." *Schizophr.Res.* 53.3 (2002): 187-98.

- Emamian, E. S. , Hall D., Birnbaum M.J., Karayiorgou M., Gogos J.A. "Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia." *Nat.Genet.* 36.2 (2004): 131-37.
- Ervin F.R., Anders T.R. (1970): Normal and pathological memory, data and a conceptual scheme. *The Neurosciences, Second Study Program. Editor: Schmitt F.O.; Rockefeller University Press, New York; S.163.*
- Excoffier, L. und Slatkin, M. (1995) Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Molecular Biology and Evolution*, 12, 921-927.
- Fabisch, H., Kroisel, P. M., Fabisch, K. (2005). [Genetic risk factors in schizophrenia]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 73 Suppl 1, S44-50.
- Fan, J. , Wu Y., Fossella J.A., Posner M.I. "Assessing the heritability of attentional networks." *BMC.Neurosci.* 2 (2001): 14.
- Fanous AH, Kendler KS (2008) Genetics of clinical features and subtypes of schizophrenia: a review of the recent literature. *Curr Psychiatry Rep.* 10(2):164-70.
- Farmer, A. E., P. McGuffin, and I. I. Gottesman. "Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition." *Arch.Gen.Psychiatry* 44.7 (1987): 634-41.
- Fatemi, S. H., J. A. Earle, and T. McMenomy. "Hippocampal CA4 Reelin-positive neurons." *Mol.Psychiatry* 5.6 (2000): 571.
- Fett AK, Viechtbauer W, Dominguez MD, Penn DL, van Os J, Krabbendam L. 2011. The relationship between neurocognition and social cognition with functional outcomes in schizophrenia: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 35:573–588.
- Fieguth, C., „GLYT2 in seiner Bedeutung für die Schizophrenie“, [edoc.ub.uni-muenchen.de/15664/1/Fieguth\\_Clara.pdf](http://edoc.ub.uni-muenchen.de/15664/1/Fieguth_Clara.pdf).
- Finkbeiner, S. , Tavazoie S.F., Maloratsky A., Jacobs K.M., Harris K.M., Greenberg M.E. "CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses." *Neuron* 19.5 (1997): 1031-47.
- Fioravanti, M. , Carlone O., Vitale B., Cinti M.E., Clare L. "A meta-analysis of cognitive deficits in adults with a diagnosis of schizophrenia." *Neuropsychol.Rev.* 15.2 (2005): 73-95.
- Fonseca, R. , Nägerl U.V., Morris R.G., Bonhoeffer T. "Competing for memory: hippocampal LTP under regimes of reduced protein synthesis." *Neuron* 44.6 (2004): 1011-20.
- Foulkes, N. S., E. Borrelli, and P. Sassone-Corsi. "CREM gene: use of alternative DNA-binding domains generates multiple antagonists of cAMP-induced transcription." *Cell* 64.4 (1991): 739-49.

- Foulkes, N. S., Laoide B.M., Schlotter F., Sassone-Corsi P. "Transcriptional antagonist cAMP-responsive element modulator (CREM) down-regulates c-fos cAMP-induced expression." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 88.12 (1991): 5448-52.
- Franzek, E. and H. Beckmann. "[Genetic heterogeneity of schizophrenia. Results of a systematic twin study]." *Nervenarzt* 67.7 (1996): 583-94.
- Freedman, R., Adams C.E., Adler L.E., Bickford P.C., Gault J., Harris J.G., Nagamoto H.T., Olincy A., Ross R.G., Stevens K.E., Waldo M., Leonard S. "Inhibitory neurophysiological deficit as a phenotype for genetic investigation of schizophrenia." *Am.J.Med.Genet.* 97.1 (2000): 58-64.
- Frey, B. N., Fonseca M.M., Machado-Vieira R., Soares J.C., Kapczinski F. "[Neuropathological and neurochemical abnormalities in bipolar disorder]." *Rev.Bras.Psiquiatr.* 26.3 (2004): 180-88.
- Freudenberg J, Freudenberg-Hua Y (2012): Testing the genomic enrichment of a large copy number variation within schizophrenia linkage regions. *Psychiatr Genet* 22(6): 294-297
- Frey, U. and R. G. Morris. "Synaptic tagging and long-term potentiation." *Nature* 385.6616 (1997): 533-36.
- Ftoun, S., et al. (2005). Down-regulation of Dickkopf 3, a regulator of the Wnt signalling pathway, in elderly schizophrenic subjects. *Journal of Neurochemistry*, 94(2), 520-530.
- Funke, B. , Finn C.T., Plocik A.M., Lake S., DeRosse P., Kane J.M., Kucherlapati R., Malhotra A.K. "Association of the DTNBP1 locus with schizophrenia in a U.S. population." *Am.J.Hum.Genet.* 75.5 (2004): 891-98.
- Galvez-Buccollini JA, Proal AC, Tomaselli V, Trachtenberg M, Coconcea C, Chun J, Manschreck T, Fleming J, Delisi LE (2012): Association between age at onset of psychosis and age at onset of cannabis use in non-affective psychosis. *Schizophr Res* 139(1-3): 157-160
- Gama, C. S., Andreazza A.C., Kunz M., Berk M., Belmonte-de-Abreu P.S., Kapczinski F. "Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder." *Neurosci.Lett.* 420.1 (2007): 45-48.
- Garey, L. J., Ong W.Y., Patel T.S., Kanani M., Davis A., Mortimer A.M., Barnes T.R., Hirsch S.R. "Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia." *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 65.4 (1998): 446-53.
- Gass, P. and M. A. Riva. "CREB, neurogenesis and depression." *Bioessays* 29.10 (2007): 957-61.
- Gazzaniga M.S. (1995): *The Cognitive Neurosciences. Cambridge (MA), MIT Press; S. 17-22.*

- Geigl, J. B., Heitzer, E., Speicher, M. R. (2010). Prädiktive und prognostische genetische Biomarker. *Wiener klinische Wochenschrift Education*, 5 (2), 49-71.
- Gejman PV, Sanders AR, Duan J (2010): The role of genetics in the etiology of schizophrenia. *Psychiatr Clin North Am* 33(1): 35-66.
- Giusti-Rodriguez, P., Sullivan, P. F. (2013). The genomics of schizophrenia: update and implications. *J Clin Invest*, 123(11), 4557-4563.
- Glantz, L. A. and D. A. Lewis. "Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 57.1 (2000): 65-73.
- Gold, P. E. "Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia." *Neurobiol.Learn.Mem.* 89.3 (2008): 201-11.
- Goldberg, T. E., Torrey E.F., Gold J.M., Ragland J.D., Bigelow L.B., Weinberger D.R. "Learning and memory in monozygotic twins discordant for schizophrenia." *Psychol.Med.* 23.1 (1993): 71-85.
- Goldberg, T. E. and D. R. Weinberger. "Genes and the parsing of cognitive processes." *Trends Cogn Sci.* 8.7 (2004): 325-35.
- Goldman- Rakic P.S. (1994a): Das Arbeitsgedächtnis. *Gehirn und Bewusstsein. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg*; S.68-76.
- Goldman-Rakic, P. S., Castner, S. A., Svensson, T. H., Siever, L. J., Williams, G. V. (2004). Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)*, 174(1), 3-16.
- Gold P., McIntyre C., McNay E., Stefani M., Korol D. (2001): Neurochemical referees of dueling memory systems. *Memory consolidations: Essays in honor of James L. McGaugh - A time to remember (2001)*; pp.219-248.
- Goleman, D. "The emotionally competent leader." *Healthc.Forum J.* 41.2 (1998): 36, 38, 76.
- Gonzalez, G. A. and M. R. Montminy. "Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by Phosphorylierung of CREB at serine 133." *Cell* 59.4 (1989): 675-80.
- Gonzalez, G. A., Yamamoto K.K., Fischer W.H., Karr D., Menzel P., Biggs W. 3rd, Vale W.W., Montminy M.R. "A cluster of Phosphorylierung sites on the cyclic AMP-regulated nuclear factor CREB predicted by its sequence." *Nature* 337.6209 (1989): 749-52.
- Gonzalez-Burgos, G., Kroener S., Zaitsev A.V., Povysheva N.V., Krimer L.S., Barrionuevo G., Lewis D.A. "Functional maturation of excitatory synapses in layer 3 pyramidal neurons during postnatal development of the primate prefrontal cortex." *Cereb.Cortex* 18.3 (2008): 626-37.



- Grace, A. A., Floresco S.B., Goto Y., Lodge D.J. "Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors." *Trends Neurosci.* 30.5 (2007): 220-27.
- Green, M. F. "What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia?" *Am.J.Psychiatry* 153.3 (1996): 321-30.
- Greenwood, P. M. and R. Parasuraman. "Normal genetic variation, cognition, and aging." *Behav.Cogn Neurosci.Rev.* 2.4 (2003): 278-306.
- Gruzelier, J., Seymour K., Wilson L., Jolley A., Hirsch S. "Impairments on neuropsychologic tests of temporohippocampal and frontohippocampal functions and word fluency in remitting schizophrenia and affective disorders." *Arch.Gen.Psychiatry* 45.7 (1988): 623-29.
- Gururajan A, Manning EE, Klug M, van den Buuse M (2012): Drugs of abuse and increased risk of psychosis development. *Aust N Z J Psychiatry* 46(12): 1120-1135.
- Gusev A, Lee SH, Trynka G, Finucane H, Vilhjalmsen BJ, Xu H, Zang C, Ripke S, Bulik-Sullivan B, Stahl E, et al. 2014. Partitioning heritability of regulatory and cell-type-specific variants across 11 common diseases. *Am J Hum Genet.* 95:535–552.
- Giusti-Rodriguez, P., Sullivan, P. F. (2013). The genomics of schizophrenia: update and implications. *J Clin Invest*, 123(11), 4557-4563.
- Guzowski, J. F. and J. L. McGaugh. "Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 94.6 (1997): 2693-98.
- Häfner H (2003): Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinol* 28 (2): 17-54.
- Häfner H (2005): Das Rätsel Schizophrenie. Eine Krankheit wird entschlüsselt. 3. Auflage. C.H. Beck Verlag, München
- Hai, T. and M. G. Hartman. "The molecular biology and nomenclature of the activating transcription factor/cAMP responsive element binding family of transcription factors: activating transcription factor proteins and homeostasis." *Gene* 273.1 (2001): 1-11.
- Hara, T., Hamada J., Yano S., Morioka M., Kai Y., Ushio Y. "CREB is required for acquisition of ischemic tolerance in gerbil hippocampal CA1 region." *J.Neurochem.* 86.4 (2003): 805-14.
- Hariri, A. R., Goldberg T.E., Mattay V.S., Kolachana B.S., Callicott J.H., Egan M.F., Weinberger D.R. "Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance." *J.Neurosci.* 23.17 (2003): 6690-94.

- Harrison, G., Glazebrook, C., Brewin, J., Cantwell, R., Dalkin, T., Fox, R., Jones, P. Medley, I. "Increased incidence of psychotic disorders in migrants from the Caribbean to the United Kingdom." *Psychol Med*, 27, (1997): 799-806.
- Harrison, P. J. and D. R. Weinberger. "Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence." *Mol.Psychiatry* 10.1 (2005): 40-68.
- Harvey, P. D., Lombardi J., Leibman M., White L., Parrella M., Powchik P., Davidson M. "Cognitive impairment and negative symptoms in geriatric chronic schizophrenic patients: a follow-up study." *Schizophr.Res.* 22.3 (1996): 223-31.
- Hashimoto, T. , Bergen S.E., Nguyen Q.L., Xu B., Monteggia L.M., Pierri J.N., Sun Z., Sampson A.R., Lewis D.A. "Relationship of brain-derived neurotrophic factor and its receptor TrkB to altered inhibitory prefrontal circuitry in schizophrenia." *J.Neurosci.* 25.2 (2005): 372-83.
- Hayashi, K. and D. W. Yandell. "How sensitive is PCR-SSCP?" *Hum.Mutat.* 2.5 (1993): 338-46.
- Hayley, S., Poulter M.O., Merali Z., Anisman H. "The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity." *Neuroscience* 135.3 (2005): 659-78.
- Hebb, D. (1949): *The organization of behavior: A neuropsychological approach.* Wiley, New York.
- Hebda-Bauer, E. K., S. J. Watson, and H. Akil. "CREB deficient mice show inhibition and low activity in novel environments without changes in stress reactivity." *Eur.J.Neurosci.* 20.2 (2004): 503-13.
- Heindel W.C., Salmon D.P., Shults C.W., Walicke P.A., Butters N. (1989): Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems, a comparison of Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's disease patients. *Journal of Neuroscience* 9: 582-587.
- Heindel W.C., Salmon D.P., Butters N. (1991): The biasing of weight judgments in Alzheimer's and Huntington's disease, a priming or programming phenomenon. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 13, 189-203.
- Heinrichs, R. W. and K. K. Zakzanis. "Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence." *Neuropsychology.* 12.3 (1998): 426-45.
- Helmstetter, F. J., R. G. Parsons, and G. M. Gafford. "Macromolecular synthesis, distributed synaptic plasticity, and fear conditioning." *Neurobiol.Learn.Mem.* 89.3 (2008): 324-37.
- Hemsley, D. R. and P. H. Richardson. "Shadowing by context in schizophrenia." *J.Nerv.Ment.Dis.* 168.3 (1980): 141-45.

- Hernandez, P. J. and T. Abel. "The role of protein synthesis in memory consolidation: progress amid decades of debate." *Neurobiol.Learn.Mem.* 89.3 (2008): 293-311.
- Hill, J. J., Kolluri N., Hashimoto T., Wu Q., Sampson A.R., Monteggia L.M., Lewis D.A. "Analysis of pyramidal neuron morphology in an inducible knockout of brain-derived neurotrophic factor." *Biol.Psychiatry* 57.8 (2005): 932-34.
- Hirschhorn, J. N. and M. J. Daly. "Genome-wide association studies for common diseases and complex traits." *Nat.Rev.Genet.* 6.2 (2005): 95-108.
- Ho, B. C., Alicata D., Ward J., Moser D.J., O'Leary D.S., Arndt S., Andreasen N.C. "Untreated initial psychosis: relation to cognitive deficits and brain morphology in first-episode schizophrenia." *Am.J.Psychiatry* 160.1 (2003): 142-48.
- Ho, B. C. , Milev P., O'Leary D.S., Librant A., Andreasen N.C., Wassink T.H. "Cognitive and magnetic resonance imaging brain morphometric correlates of brain-derived neurotrophic factor Val66Met gene polymorphism in patients with schizophrenia and healthy volunteers." *Arch.Gen.Psychiatry* 63.7 (2006): 731-40.
- Hoff, A. L., Svetina, C., Shields, G., Stewart, J., DeLisi, L. E. (2005). Ten year longitudinal study of neuropsychological functioning subsequent to a first episode of schizophrenia. *Schizophr Res*, 78(1), 27-34.
- Hoff. Eugen Bleuler's concept of schizophrenia and its relevance to present-day psychiatry. *Neuropsychobiology* 66(1) (2012): 6-13
- Hu, B. R., Fux C.M., Martone M.E., Zivin J.A., Ellisman M.H. "Persistent Phosphorylierung of cyclic AMP responsive element-binding protein and activating transcription factor-2 transcription factors following transient cerebral ischemia in rat brain." *Neuroscience* 89.2 (1999): 437-52.
- Hua, J. Y. and S. J. Smith. "Neural activity and the dynamics of central nervous system development." *Nat.Neurosci.* 7.4 (2004): 327-32.
- Hunter DJ, Kraft P (2007) Drinking from the fire hose--statistical issues in genomewide association studies. *N Engl J Med.* 357(5):436-9.
- Iga, J. , Ueno S., Yamauchi K., Numata S., Kinouchi S., Tayoshi-Shibuya S., Song H., Ohmori T. "Altered HDAC5 and CREB mRNA expressions in the peripheral leukocytes of major depression." *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 31.3 (2007): 628-32.
- Ikeda, M., Iwata N., Suzuki T., Kitajima T., Yamanouchi Y., Kinoshita Y., Inada T., Ozaki N. "Association of AKT1 with schizophrenia confirmed in a Japanese population." *Biol.Psychiatry* 56.9 (2004): 698-700.
- Impey, S., Mark M., Villacres E.C., Poser S., Chavkin C., Storm D.R. "Induction of CRE-mediated gene expression by stimuli that generate long-lasting LTP in area CA1 of the hippocampus." *Neuron* 16.5 (1996): 973-82.

- Impey, S., Smith D.M., Obrietan K., Donahue R., Wade C., Storm D.R. "Stimulation of cAMP response element (CRE)-mediated transcription during contextual learning." *Nat.Neurosci.* 1.7 (1998): 595-601.
- Ingraham LJ, Kety SS (2000): Adoption studies of schizophrenia. *Am J Med Genet* 97(1): 18-22
- International HapMap Consortium (2005) A haplotype map of the human genome. *Nature* 437(7063):1299-320.
- International Schizophrenia Consortium, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P (2009): Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 460(7256): 748-752
- Jablensky, A. "Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability." *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* 250.6 (2000): 274-85.
- Jablensky A (2006) Subtyping schizophrenia: implications for genetic research. *Mol Psychiatry* 11(9):815-36.
- Jacobs, K. M. and J. P. Donoghue. "Reshaping the cortical motor map by unmasking latent intracortical connections." *Science* 251.4996 (1991): 944-47.
- Jancic, D., Lopez de Armentia M., Valor L.M., Olivares R., Barco A. "Inhibition of cAMP response element-binding protein reduces neuronal excitability and plasticity, and triggers neurodegeneration." *Cereb.Cortex* 19.11 (2009): 2535-47.
- Johansson, B., Whitfield K., Pedersen N.L., Hofer S.M., Ahern F., McClearn G.E. "Origins of individual differences in episodic memory in the oldest-old: a population-based study of identical and same-sex fraternal twins aged 80 and older." *J.Gerontol.B Psychol.Sci.Soc.Sci.* 54.3 (1999): 173-79.
- Johnstone, E. C., Ebmeier, K. P., Miller, P., Owens, D. G., Lawrie, S. M. (2005). Predicting schizophrenia: findings from the Edinburgh High-Risk Study. *Br J Psychiatry*, 186, 18-25.
- Jones PB, Rantakallio P, Hartikainen AL, Isohanni M, Pirkko Sipila P Schizophrenia as a Long-Term Outcome of Pregnancy, Delivery, and Perinatal Complications: A 28-Year Follow-Up of the 1966 North Finland General Population Birth Cohort. *Am J Psychiatry* 155 (1998):355-64.
- Kaang, B. K., E. R. Kandel, and S. G. Grant. "Activation of cAMP-responsive genes by stimuli that produce long-term facilitation in *Aplysia* sensory neurons." *Neuron* 10.3 (1993): 427-35.
- Kalia M, Costa ESJ. 2015. Biomarkers of psychiatric diseases: current status and future prospects. *Metab Clin Exp.* 64:S11–S15.
- Kalkman, H. O. "The role of the phosphatidylinositide 3-kinase-protein kinase B pathway in schizophrenia." *Pharmacol.Ther.* 110.1 (2006): 117-34.

- Kalus, P., Müller T.J., Zuschratter W., Senitz D. „The dendritic architecture of prefrontal pyramidal neurons in schizophrenic patients." *Neuroreport* 11.16 (2000): 3621-25.
- Kandel, E. R. "The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses." *Biosci.Rep.* 21.5 (2001): 565-611.
- Kandel E.R. (2001): The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. *Science* 294(5544): 1030-1038.
- Kawanishi, Y., Harada S., Tachikawa H., Okubo T., Shiraishi H. "Novel variants in the promoter region of the CREB gene in schizophrenic patients." *J.Hum.Genet.* 44.6 (1999): 428-30.
- Keefe, R. S., Fenton, W. S. (2007). How should DSM-V criteria for schizophrenia include cognitive impairment? *Schizophr Bull*, 33(4), 912-920.
- Kendler, K. S. and S. R. Diehl. "The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective." *Schizophr.Bull.* 19.2 (1993): 261-85.
- Kendler, K.S.und Gardner, C.O. (1997) The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. *Psychological Medicine*, 27, 411-419.
- Kendler, K. S., A. M. Gruenberg, and D. K. Kinney. "Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 51.6 (1994): 456-68.
- Kendler, K. S., McGuire M., Gruenberg A.M., Walsh D. "Schizotypal symptoms and signs in the Roscommon Family Study. Their factor structure and familial relationship with psychotic and affective disorders." *Arch.Gen.Psychiatry* 52.4 (1995): 296-303.
- Kenny, J. T. and H. Y. Meltzer. "Attention and higher cortical functions in schizophrenia." *J.Neuropsychiatry Clin.Neurosci.* 3.3 (1991): 269-75.
- Keshavan MS, Kulkarni S, Bhojraj T, Francis A, Diwadkar V, Montrose DM, Seidman LJ, Sweeney J (2010) Premorbid cognitive deficits in young relatives of schizophrenia patients. *Front Hum Neurosci.* 3:62.
- Keshavan, M. S., Tandon R., Boutros N.N., Nasrallah H.A. "Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology." *Schizophr.Res.* 106.2-3 (2008): 89-107.
- Kety, S. S., Wender P.H., Jacobsen B., Ingraham L.J., Jansson L., Faber B., Kinney D.K. Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark." *Arch.Gen.Psychiatry* 51.6 (1994): 442-55.

- Kirov G, Gumus D, Chen W, Norton N, Georgieva L, Sari M, O'Donovan MC, Erdogan F, Owen MJ, Ropers HH, Ullmann R (2008): Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 17(3): 458-465
- Kirov, G., Zaharieva I., Georgieva L., Moskvina V., Nikolov I., Cichon S., Hillmer A., Toncheva D., Owen M.J., O'Donovan M.C. "A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling." *Mol.Psychiatry* 14.8 (2009): 796-803.
- Klann, E. and J. D. Sweatt. "Altered protein synthesis is a trigger for long-term memory formation." *Neurobiol.Learn.Mem.* 89.3 (2008): 247-59.
- Kneeland, R. E., et al. (2013). Viral infection, inflammation and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 42, 35-48.
- Koch, J. M., Hinze-Selch D., Stingle K., Huchzermeier C., Goder R., Seeck-Hirschner M., Aldenhoff J.B. "Changes in CREB phosphorylation and BDNF plasma levels during psychotherapy of depression." *Psychother.Psychosom.* 78.3 (2009): 187-92.
- Kohn, Y., Danilovich E., Filon D., Oppenheim A., Karni O., Kanyas K., Turetsky N., Korner M., Lerer B. "Linkage disequilibrium in the DTNBP1 (dysbindin) gene region and on chromosome 1p36 among psychotic patients from a genetic isolate in Israel: findings from identity by descent haplotype sharing analysis." *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 128B.1 (2004): 65-70.
- Kozlovsky, N., R. H. Belmaker, and G. Agam. "Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients." *Schizophr.Res.* 52.1-2 (2001): 101-05.
- Kraepelin, E. (1896) Dementia Praecox. In *Psychiatrie, Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*. 5. ed. Barth, Leipzig.
- Kringlen, E. "Twins--still our best method." *Schizophr.Bull.* 2.3 (1976): 429-33.
- Kundakovic, M., Chen Y., Costa E., Grayson D.R. „DNA methyltransferase inhibitors coordinately induce expression of the human reelin and glutamic acid decarboxylase 67 genes." *Mol.Pharmacol.* 71.3 (2007): 644-53.
- Kuperberg, G. and S. Heckers. "Schizophrenia and cognitive function." *Curr.Opin. Neurobiol.* 10.2 (2000): 205-10.
- Lai, I. C., C. J. Hong, and S. J. Tsai. "Expression of cAMP response element-binding protein in major depression before and after antidepressant treatment." *Neuropsychobiology* 48.4 (2003): 182-85.
- Lang, U. E., Puls I., Muller D.J., Strutz-Seebohm N., Gallinat J. "Molecular mechanisms of schizophrenia." *Cell Physiol Biochem.* 20.6 (2007): 687-702.
- Laske, C. and G. W. Eschweiler. "[Brain-derived neurotrophic factor: from nerve growth factor to modulator of brain plasticity in cognitive processes and psychiatric diseases]." *Nervenarzt* 77.5 (2006): 523-37.

- Lauronen, E., Koskinen, J., Veijola, J., Miettunen, J., Jones, P.B., et al. "Recovery from schizophrenic psychoses in the northern Finland 1966 Birth Cohort." *J Clin Psychiatry*, 66 (2005): 375-383.
- Lee, H. T. , Chang Y.C., Wang L.Y., Wang S.T., Huang C.C., Ho C.J. "cAMP response element-binding protein activation in ligation preconditioning in neonatal brain." *Ann.Neurol.* 56.5 (2004): 611-23.
- Lee, M. M., A. Badache, and G. H. DeVries. "Phosphorylation of CREB in axon-induced Schwann cell proliferation." *J.Neurosci.Res.* 55.6 (1999): 702-12.
- LeDoux J.E. (2002): Emotion memory and the brain. *Scientific America* 12: 62-72.
- Lencz, T. , Morgan T.V., Athanasiou M., Dain B., Reed C.R., Kane J.M., Kucherlapati R., Malhotra A.K. "Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia." *Mol.Psychiatry* 12.6 (2007): 572-80.
- Lepage M, Bodnar M, Bowie CR. 2014. Neurocognition: clinical and functional outcomes in schizophrenia. *Can J Psychiatry*. 59:5–12.
- Lewis, C. M., Levinson D.F., Wise L.H., DeLisi L.E., Straub R.E., Hovatta I., Williams N.M., Schwab S.G., Pulver A.E., Faraone S.V., Brzustowicz L.M., Kaufmann C.A., Garver D.L., Gurling H.M., Lindholm E., Coon H., Moises H.W., Byerley W., Shaw S.H., Mesen A., Sherrington R., O'Neill F.A., Walsh D., Kendler K.S., Ekelund J., Paunio T., Lönngqvist J., Peltonen L., O'Donovan M.C., Owen M.J., Wildenauer D.B., Maier W., Nestadt G., Blouin J.L., Antonarakis S.E., Mowry B.J., Silverman J.M., Crowe R.R., Cloninger C.R., Tsuang M.T., Malaspina D., Harkavy-Friedman J.M., Svrakic D.M., Bassett A.S., Holcomb J., Kalsi G., McQuillin A., Brynjolfson J., Sigmundsson T., Petursson H., Jazin E., Zoëga T., Helgason T. "Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia." *Am.J.Hum.Genet.* 73.1 (2003): 34-48.
- Lewis, D. A. "In pursuit of the pathogenesis and pathophysiology of schizophrenia: where do we stand?" *Am.J.Psychiatry* 159.9 (2002): 1467-69.
- Lewis, D. A. and G. Gonzalez-Burgos. "Neuroplasticity of neocortical circuits in schizophrenia." *Neuropsychopharmacology* 33.1 (2008): 141-65.
- Lewis, D. A. and P. Levitt. "Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment." *Annu.Rev.Neurosci.* 25 (2002): 409-32.
- Lewontin R.C. (1964): The interaction of selection and linkage. II. Optimum models. *Genetics* 50: 757-782.
- Li, D. and L. He. "Association study between the NMDA receptor 2B subunit gene (GRIN2B) and schizophrenia: a HuGE review and meta-analysis." *Genet.Med.* 9.1 (2007): 4-8.
- Lichtenstein P, Yip BH, Björk C, Pawitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, Hultman CM (2009): Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet* 373(9659): 234-239

- Lieberman JA, Perkins D, Belger A, Chakos M, Jarskog F, Boteva K, Gilmore J (2001): The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biol Psychiatry* 50(11): 884-897
- Lonze, B. E. and D. D. Ginty. "Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system." *Neuron* 35.4 (2002): 605-23.
- Lonze, B. E., Riccio A., Cohen S., Ginty D.D. "Apoptosis, axonal growth defects, and degeneration of peripheral neurons in mice lacking CREB." *Neuron* 34.3 (2002): 371-85.
- Luikart, B. W., Zhang W., Wayman G.A., Kwon C.H., Westbrook G.L., Parada L.F. "Neurotrophin-dependent dendritic filopodial motility: a convergence on PI3K signaling." *J.Neurosci.* 28.27 (2008): 7006-12.
- Lykken, D. T., McGue M., Tellegen A., Bouchard T.J. Jr. "Emergence. Genetic traits that may not run in families." *Am.Psychol.* 47.12 (1992): 1565-77.
- Lysaker PH, Larocco VA (2008): The prevalence and correlates of trauma-related symptoms in schizophrenia spectrum disorder. *Compr Psychiatry* 49(4): 330-334
- Ma L, Wu DD, Ma SL, Tan L, Chen X, Tang NL, Yao YG. Molecular evolution in the CREB1 signal pathway and a rare haplotype in CREB1 with genetic predisposition to schizophrenia) *Journal of Psychiatric Research* , Volume 57 (2014) , 84 – 89.
- Mabuchi, T., Kitagawa K., Kuwabara K., Takasawa K., Ohtsuki T., Xia Z., Storm D., Yanagihara T., Hori M., Matsumoto M. "Phosphorylation of cAMP response element-binding protein in hippocampal neurons as a protective response after exposure to glutamate in vitro and ischemia in vivo." *J.Neurosci.* 21.23 (2001): 9204-13.
- MacDonald, A. W., III, Carter C.S., Kerns J.G., Ursu S., Barch D.M., Holmes A.J., Stenger V.A., Cohen J.D. "Specificity of prefrontal dysfunction and context processing deficits to schizophrenia in never-medicated patients with first-episode psychosis." *Am.J.Psychiatry* 162.3 (2005): 475-84.
- MacDonald, A. W., Schulz S. C. "What We Know: Findings That Every Theory of Schizophrenia Should Explain." *Schizophrenia Bulletin* 35 (2009): 493-508.
- Maier, W., Rietschel M., Lichtermann D., Wildenauer D.B. "Family and genetic studies on the relationship of schizophrenia to affective disorders." *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* 249 Suppl 4 (1999): 57-61.
- Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., et al. "Genetik schizophrener Störungen. Neuere Konzepte und Befunde." *Nervenarzt*, 70 (1999): 955-969.
- Maier, W., Mössner R, Quednow BB, Wagner M, Hurlemann R. (2008). Genetik psychischer Störungen. In H.-J. Möller, G. Laux & H.-P. Kapfhammer (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (pp. 71-108): Springer Berlin Heidelberg.



- Malberg, J. E. and J. A. Blendy. "Antidepressant action: to the nucleus and beyond." *Trends Pharmacol.Sci.* 26.12 (2005): 631-38.
- Malhotra D, Sebat J (2012): CNVs: harbingers of a rare variant revolution in psychiatric genetics. *Cell* 148(6): 1223-1241
- Manolio, T. A., L. D. Brooks, and F. S. Collins. "A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease." *J.Clin.Invest* 118.5 (2008): 1590-605.
- Mantamadiotis, T., Lemberger T., Bleckmann S.C., Kern H., Kretz O., Martin Villalba A., Tronche F., Kellendonk C., Gau D., Kapfhammer J., Otto C., Schmid W., Schütz G. "Disruption of CREB function in brain leads to neurodegeneration." *Nat.Genet.* 31.1 (2002): 47-54.
- March, D., Hatch, S.L., Morgan, C., Kirkbride, J.B., Bresnahan, M., Fearon, P. and Susser, E. "Psychosis and place." *Epidemiol Rev*, 30, (2008): 84-100
- Marneros, A., Deister, A. und Rohde, A. (1991) *Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen. Eine vergleichende Langzeitstudie.* Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokio.
- Martin, K. C., Casadio A., Zhu H., Yaping E., Rose J.C., Chen M., Bailey C.H., Kandel E.R. "Synapse-specific, long-term facilitation of aplysia sensory to motor synapses: a function for local protein synthesis in memory storage." *Cell* 91.7 (1997): 927-38.
- Matthies, H., Schulz S., Thiemann W., Siemer H., Schmidt H., Krug M., Höllt V. "Design of a multiple slice interface chamber and application for resolving the temporal pattern of CREB phosphorylation in hippocampal long-term potentiation." *J.Neurosci.Methods* 78.1-2 (1997): 173-79.
- Maurer K, Häfner H (1995) Epidemiologie positiver und negativer Symptome in der Schizophrenie. In. Häfner H (Hrsg.) Was ist Schizophrenie? Fischer, Stuttgart Jena New York.
- Mayr, B. and M. Montminy. "Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB." *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.* 2.8 (2001): 599-609.
- Mayr, B. M., G. Canettieri, and M. R. Montminy. "Distinct effects of cAMP and mitogenic signals on CREB-binding protein recruitment impart specificity to target gene activation via CREB." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98.19 (2001): 10936-41.
- McAllister, A. K., L. C. Katz, and D. C. Lo. "Neurotrophin regulation of cortical dendritic growth requires activity." *Neuron* 17.6 (1996): 1057-64.
- McAllister, A. K., D. C. Lo, and L. C. Katz. "Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex." *Neuron* 15.4 (1995): 791-803.
- McCampbell, A., Taylor J.P., Taye A.A., Robitschek J., Li M., Walcott J., Merry D., Chai Y., Paulson H., Sobue G., Fischbeck K.H."CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine." *Hum.Mol.Genet.* 9.14 (2000): 2197-202.

- McClearn, G. E., Johansson B., Berg S., Pedersen N.L., Ahern F., Petrill S.A., Plomin R. "Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old." *Science* 276.5318 (1997): 1560-63.
- McGrath J., Saha S., Welhalm J., Saadi O. E., MacCauley C., Chant D. "A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology." *BMC medicine* (2004): 1741-7015-2-13.
- McGrath J. J. "Variations in the Incidence of Schizophrenia: Data Versus Dogma." *Schizophrenia Bulletin* 32 (2006): 195-197
- McGrath J. J., Saha S., Chant D., Welham J. "Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence and Mortality." *Epidemiologic Reviews* 30 (2008): 67-76
- McGrath JJ, Susser ES. New directions in the epidemiology of schizophrenia. *Med J Aust.* 2009 Feb 16;190(4 Suppl):S7-9. Review.
- McGuffin, P. and M. J. Owen. "Molecular genetic studies of schizophrenia." *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 61 (1996): 815-22.
- McGuffin, P., M. J. Owen, and A. E. Farmer. "Genetic basis of schizophrenia." *Lancet* 346.8976 (1995): 678-82.
- McNeil, T. F., E. Cantor-Graae, and D. R. Weinberger. "Relationship of obstetric complications and differences in size of brain structures in monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia." *Am. J. Psychiatry* 157.2 (2000): 203-12.
- Meshulam-Gately, R. I., Giuliano A.J., Goff K.P., Faraone S.V., Seidman L.J. "Neurocognition in first-episode schizophrenia: a meta-analytic review." *Neuropsychology*. 23.3 (2009): 315-36.
- Meyer, T. E. and J. F. Habener. "Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response element binding protein (CREB) and related transcription-activating deoxyribonucleic acid-binding proteins." *Endocr. Rev.* 14.3 (1993): 269-90.
- Millar JK, Wilson-Annan JC, Anderson S, Christie S, Taylor MS, Semple CA, Devon RS, St Clair DM, Muir WJ, Blackwood DH, Porteous DJ (2000): Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 9(9): 1415–1423
- Miller, K. D. "Synaptic economics: competition and cooperation in synaptic plasticity." *Neuron* 17.3 (1996): 371-74.
- Miltner, W. H., Braun C., Arnold M., Witte H., Taub E. "Coherence of gamma-band EEG activity as a basis for associative learning." *Nature* 397.6718 (1999): 434-36.
- Mohamed, S., Paulsen, J. S., O'Leary, D., Arndt, S., Andreasen, N. (1999). Generalized cognitive deficits in schizophrenia: a study of first-episode patients. *Arch Gen Psychiatry*, 56(8), 749-754.

- Montarolo, P. G., Goelet P., Castellucci V.F., Morgan J., Kandel E.R., Schacher S. "A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in *Aplysia*." *Science* 234.4781 (1986): 1249-54.
- Montminy, M. "Transcriptional regulation by cyclic AMP." *Annu.Rev.Biochem.* 66 (1997): 807-22.
- Montminy, M. R. and L. M. Bilezikjian. "Binding of a nuclear protein to the cyclic-AMP response element of the somatostatin gene." *Nature* 328.6126 (1987): 175-78.
- Montminy, M. R., G. A. Gonzalez, and K. K. Yamamoto. "Characteristics of the cAMP response unit." *Metabolism* 39.9 Suppl 2 (1990): 6-12.
- Möller, H.-J. und Deister, A. (2000) Schizophrenie. In Möller, H.-J., Laux, G. und Kapfhammer, H.P. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie*. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg.
- Möller, H.-J., Laux, G. und Deister, A. (2001) Schizophrenie. In Bob, A. und Bob, K. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie, Duale Reihe*. 2nd ed. Georg-Thieme Verlag, Stuttgart.
- Möller, H.-J.; Laux, G.; Deister, A. (2005). *Duale Reihe. Psychiatrie und Psychotherapie*. 3., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Möller, H. J., Deister, A., Schaub, A., Riedel, M. (2008). Schizophrene Psychosen. In H.-J. Möller, G. Laux & H.-P. Kapfhammer (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (pp. 1255-1358): Springer Berlin Heidelberg.
- Moore, T. H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T. R., Jones, P. B., Burke, M., Lewis, G. (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*, 370(9584), 319-328.
- Mössner, Meier, and Rujescu. "Neuer Erkenntnisse zur Genetik der Schizophrenie." *Nervenarzt* 80 (2009): 6-11.
- Nader, K., G. E. Schafe, and J. E. LeDoux. "The labile nature of consolidation theory." *Nat.Rev.Neurosci.* 1.3 (2000): 216-19.
- Need, A. C., Ge D., Weale M.E., Maia J., Feng S., Heinzen E.L., Shianna K.V., Yoon W., Kasperaviciute D., Gennarelli M., Strittmatter W.J., Bonvicini C., Rossi G., Jayathilake K., Cola P.A., McEvoy J.P., Keefe R.S., Fisher E.M., St Jean P.L., Giegling I., Hartmann A.M., Möller H.J., Ruppert A., Fraser G., Crombie C., Middleton L.T., St Clair D., Roses A.D., Muglia P., Francks C., Rujescu D., Meltzer H.Y., Goldstein D.B. "A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia." *PLoS.Genet.* 5.2 (2009): e1000373.
- Nei M. (1987): *Molecular evolutionary genetics*. New York, NY, Columbia University Press.
- Nestler, E. J. "Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction." *Nat.Rev.Neurosci.* 2.2 (2001): 119-28.

- Norman, R. M., L. Townsend, and A. K. Malla. "Duration of untreated psychosis and cognitive functioning in first-episode patients." *Br.J.Psychiatry* 179 (2001): 340-45.
- Norton N, Williams HJ, Owen MJ (2006): An update on the genetics of schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 19(2): 158-164
- Nucifora, F. C., Jr., Sasaki M., Peters M.F., Huang H., Cooper J.K., Yamada M., Takahashi H., Tsuji S., Troncoso J., Dawson V.L., Dawson T.M., Ross C.A. "Interference by huntingtin and atrophin-1 with cbp-mediated transcription leading to cellular toxicity." *Science* 291.5512 (2001): 2423-28.
- Ng SB, Turner EH, Robertson PD, Flygare SD, Bigham AW, Lee C, Shaffer T, Wong M, Bhattacharjee A, Eichler EE, Bamshad M, Nickerson DA, Shendure J; Turner; Robertson; Flygare; Bigham; Lee; Shaffer; Wong et al. (2009). "Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes". *Nature* 461 (7261): 272–276.
- Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., Lewis, C. M. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14(8), 774-785.
- Nnadi CU, Malhotra AK (2007) Individualizing antipsychotic drug therapy in schizophrenia: the promise of pharmacogenetics. *Curr Psychiatry Rep.* 9(4):313-8.
- Numakawa, T., Yagasaki Y., Ishimoto T., Okada T., Suzuki T., Iwata N., Ozaki N., Taguchi T., Tatsumi M., Kamijima K., Straub R.E., Weinberger D.R., Kunugi H., Hashimoto R. "Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia." *Hum.Mol.Genet.* 13.21 (2004): 2699-708.
- Ochoa S, Usall J, Cobo J, Labad X, Kulkarni J (2012): Gender differences in schizophrenia and first-episode psychosis: a comprehensive literature review. *Schizophr Res Treatment* 2012. doi: 10.1155/2012/916198

- O'Donovan, M. C., Craddock N., Norton N., Williams H., Peirce T., Moskvina V., Nikolov I., Hamshere M., Carroll L., Georgieva L., Dwyer S., Holmans P., Marchini J.L., Spencer C.C., Howie B., Leung H.T., Hartmann A.M., Möller H.J., Morris D.W., Shi Y., Feng G., Hoffmann P., Propping P., Vasilescu C., Maier W., Rietschel M., Zammit S., Schumacher J., Quinn E.M., Schulze T.G., Williams N.M., Giegling I., Iwata N., Ikeda M., Darvasi A., Shifman S., He L., Duan J., Sanders A.R., Levinson D.F., Gejman P.V., Cichon S., Nöthen M.M., Gill M., Corvin A., Rujescu D., Kirov G., Owen M.J., Buccola N.G., Mowry B.J., Freedman R., Amin F., Black D.W., Silverman J.M., Byerley W.F., Cloninger C.R. "Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up." *Nat.Genet.* 40.9 (2008): 1053-55.
- Olton D.S., Becker J.T., Handelman G.E. (1979): Hippocampus, space and memory. *Behavioral and Brain Sciences* 2: 313-365.
- O'Neill, C., Fowler C.J., Winblad B., Cowburn R.F. "G-protein coupled signal transduction systems in the Alzheimer's disease brain." *Biochem.Soc.Trans.* 22.1 (1994): 167-71.
- Olney, J. W. and N. B. Farber. "Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 52.12 (1995): 998-1007.
- Onstad, S., Skre I., Torgersen S., Kringlen E. "Twin concordance for DSM-III-R schizophrenia." *Acta Psychiatr.Scand.* 83.5 (1991): 395-401.
- Owen, M.J. "Molecular genetic studies of schizophrenia." *Brain Res Brain Re Rev*, 31 (2000): 179-186.
- Owen, M. J., N. M. Williams, and M. C. O'Donovan. "The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights." *Mol.Psychiatry* 9.1 (2004): 14-27.
- Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC (2005): Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet* 21(9): 518-525
- Owen, M. J., Williams, H. J., O'Donovan, M. C. (2009). Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev*, 19(3), 266-270.
- Owens, S. F., Picchioni, M. M., Ettinger, U., McDonald, C., Walshe, M., Schmechtig, A., Murray, R. M., Rijdsdijk, F., Touloupoulou, T. (2012). Prefrontal deviations in function but not volume are putative endophenotypes for schizophrenia. *Brain*, 135(Pt 7), 2231-2244.
- Ozomaro U, Wahlestedt C, Nemeroff CB. 2013. Personalized medicine in psychiatry: problems and promises. *BMC Med.* 11:132.
- Palmer, B. W., S. E. Dawes, and R. K. Heaton. "What do we know about neuropsychological aspects of schizophrenia?" *Neuropsychol.Rev.* 19.3 (2009): 365-84.

- Pedersen, C.B. and Mortensen, P.B. "Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk." *Arch Gen Psychiatry*, 58, (2001): 1039-1046.
- Penner JD, Brown AS. "Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia." *Expert Rev Neurother*. 7 (2007):797-805.
- Perlis, R. H., Purcell S., Fagerness J., Cusin C., Yamaki L., Fava M., Smoller J.W. "Clinical and genetic dissection of anger expression and CREB1 polymorphisms in major depressive disorder." *Biol.Psychiatry* 62.5 (2007): 536-40.
- Perlis, R. H., Purcell S., Fava M., Fagerness J., Rush A.J., Trivedi M.H., Smoller J.W. "Association between treatment-emergent suicidal ideation with citalopram and polymorphisms near cyclic adenosine monophosphate response element binding protein in the STAR\*D study." *Arch.Gen.Psychiatry* 64.6 (2007): 689-97.
- Petersen L, Sorensen TI (2011): Studies based on the Danish Adoption Register: schizophrenia, BMI, smoking, and mortality in perspective. *Scand J Public Health* 39(7 Suppl): 191-195
- Petrij, F., Giles R.H., Dauwerse H.G., Saris J.J., Hennekam R.C., Masuno M., Tommerup N., van Ommen G.J., Goodman R.H., Peters D.J. "Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP." *Nature* 376.6538 (1995): 348-51.
- Petronis A (2004): The origin of schizophrenia: genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. *Biol Psychiatry* 55(10): 965-970
- Petronis A (2006): Epigenetics and twins: three variations on the theme. *Trends Genet* 22(7): 347-350
- Pezawas, L., Verchinski B.A., Mattay V.S., Callicott J.H., Kolachana B.S., Straub R.E., Egan M.F., Meyer-Lindenberg A., Weinberger D.R. "The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology." *J.Neurosci.* 24.45 (2004): 10099-102.
- Pham, T. A., Impey S., Storm D.R., Stryker M.P. "CRE-mediated gene transcription in neocortical neuronal plasticity during the developmental critical period." *Neuron* 22.1 (1999): 63-72.
- Pittenger, C., Huang Y.Y., Paletzki R.F., Bourtchouladze R., Scanlin H., Vronskaya S., Kandel E.R. "Reversible inhibition of CREB/ATF transcription factors in region CA1 of the dorsal hippocampus disrupts hippocampus-dependent spatial memory." *Neuron* 34.3 (2002): 447-62.
- Pliakas, A. M., Carlson R.R., Neve R.L., Konradi C., Nestler E.J., Carlezon W.A. Jr. "Altered responsiveness to cocaine and increased immobility in the forced swim test associated with elevated cAMP response element-binding protein expression in nucleus accumbens." *J.Neurosci.* 21.18 (2001): 7397-403.

- Plomin, R. "The genetics of g in human and mouse." *Nat.Rev.Neurosci.* 2.2 (2001): 136-41.
- Plomin, R. and I. Craig. "Human behavioural genetics of cognitive abilities and disabilities." *Bioessays* 19.12 (1997): 1117-24.
- Porteous, D. J., Thomson P., Brandon N.J., Millar J.K. "The genetics and biology of DISC1--an emerging role in psychosis and cognition." *Biol.Psychiatry* 60.2 (2006): 123-31.
- Prathikanti, S. and D. R. Weinberger. "Psychiatric genetics--the new era: genetic research and some clinical implications." *Br.Med.Bull.* 73-74 (2005): 107-22.
- Propping, P., Nöthen, M.M., Körner, J., Rietschel, M., Maier, W. "Assoziationsuntersuchungen bei psychiatrischen Erkrankungen. Konzepte und Befunde." *Nervenarzt*, 65 (1994): 725-740.
- Purcell, Shaun M., Jennifer L. Moran, Menachem Fromer, Douglas Ruderfer, Nadia Solovieff, Panos Roussos, Colm O'Dushlaine, et al. "A Polygenic Burden of Rare Disruptive Mutations in Schizophrenia." *Nature* 506, no. 7487 (January 22, 2014): 185–190.
- Pusch W, Wurmbach JH, Thiele H, Kostrzewa M. MALDI-TOF mass spectrometry-based SNP genotyping. *Pharmacogenomics*. 2002 Jul;3(4):537-48. Review.
- Radhakrishnan, R., et al. (2014). Chapter Fourteen - Cannabis, Cannabinoids, and the Association with Psychosis. In B. Madras & M. Kuhar (Eds.), *The Effects of Drug Abuse on the Human Nervous System* (pp. 423-474). Boston: Academic Press.
- Randolph, C., Gold J.M., Carpenter C.J., Goldberg T.E., Weinberger D.R. "Implicit memory in patients with schizophrenia and normal controls: effects of task demands on susceptibility to priming." *J.Clin.Exp.Neuropsychol.* 15.6 (1993): 853-66.
- Redmond, L., A. H. Kashani, and A. Ghosh. "Calcium regulation of dendritic growth via CaM kinase IV and CREB-mediated transcription." *Neuron* 34.6 (2002): 999-1010.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME (2006): Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444(7118): 444-454
- Reiss, D., R. Plomin, and E. M. Hetherington. "Genetics and psychiatry: an unheralded window on the environment." *Am.J.Psychiatry* 148.3 (1991): 283-91.

- Riccio, A., Ahn S., Davenport C.M., Blendy J.A., Ginty D.D. "Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons." *Science* 286.5448 (1999): 2358-61.
- Rice, J.P.; Reich, T.; Buchholz, K.K.; Neuman, R.J.; Fishman, R.; Rochberg, N.; Hesselbrock, V.M.; Nurnberger, J.I.; Jr., Schuckit, M.A. and Begleiter, H. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **19**: 1018-1023.
- Richter- Levin G., Akirav I. (2003): Emotional tagging of memory formation - in the search for neural mechanisms. *Brain Research Reviews* **43**: 247-256.
- Riedel-Heller, S.G. and Angermeyer, M.C. "Ecologic distribution of mental disorders in urban areas. Review of six decades of ecologic research in psychiatry." *Psychiatr Prax*, 27, (2000): 214-220.
- Risch, N. "Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models." *Am.J.Hum.Genet.* 46.2 (1990): 222-28.
- Risch, N. and K. Merikangas. "The future of genetic studies of complex human diseases." *Science* 273.5281 (1996): 1516-17.
- Rison, R. A. and P. K. Stanton. "Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: foundations of memory and neurologic disease?" *Neurosci.Biobehav.Rev.* 19.4 (1995): 533-52.
- Ritchie, M. D., Hahn L.W., Roodi N., Bailey L.R., Dupont W.D., Parl F.F., Moore J.H. "Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer." *Am.J.Hum.Genet.* 69.1 (2001): 138-47.
- Rosenzweig, M. R. and E. L. Bennett. "Cerebral changes in rats exposed individually to an enriched environment." *J.Comp Physiol Psychol.* 80.2 (1972): 304-13.
- Ross, C. A., Margolis R.L., Reading S.A., Pletnikov M., Coyle J.T. "Neurobiology of schizophrenia." *Neuron* 52.1 (2006): 139-53.
- Rössler W., Salize J., Knapp M. (1998): Die Kosten der Schizophrenie. *Fortschritte der Neurologie - Psychiatrie (FDN)* 66: 496-504.
- Routtenberg A., Rekart J.L. (2005): Post- translational protein modification as the substrate for long- lasting memory. *Trends of Neuroscience* 28(1): 12-19.
- Rudolph, D., Tafuri A., Gass P., Hämmerling G.J., Arnold B., Schütz G. "Impaired fetal T cell development and perinatal lethality in mice lacking the cAMP response element binding protein." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 95.8 (1998): 4481-86.
- Rujescu D., "Is the roller coaster ride in schizophrenia genetics coming to an end? breakthrough or wishful thinking?" *World J Biol Psychiatry* 9[3] (2008):162-4.



- Rujescu D, Ingason A, Cichon S, Pietiläinen OP, Barnes MR, Touloupoulou T, Picchioni M, Vassos E, Ettinger U, Bramon E, Murray R, Ruggeri M, Tosato S, Bonetto C, Steinberg S, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Petursson H, Gylfason A, Olason PI, Hardarsson G, Jonsdottir GA, Gustafsson O, Fossdal R, Giegling I, Möller HJ, Hartmann AM, Hoffmann P, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonnqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Djurovic S, Melle I, Andreassen OA, Hansen T, Werge T, Kiemenev LA, Franke B, Veltman J, Buizer-Voskamp JE; GROUP Investigators, Sabatti C, Ophoff RA, Rietschel M, Nöthen MM, Stefansson K, Peltonen L, St Clair D, Stefansson H, Collier DA (2009) Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 18(5):988-96.
- Rujescu, D. (2010). Neue Ergebnisse in der genetischen Forschung bei schizophrenen Psychosen. In H.-J. Möller & N. Müller (Eds.), *Schizophrenie - Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung*. Vienna: Springer-Verlag.
- Saha S., Chant D., Welham J. McGrath J. J. "A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia." *PloS Medicine* 2 (2005): 413-141.
- Saha S., Chant D., McGrath J. J. "Meta-analyses of the incidence and prevalence of schizophrenia: conceptual and methodological issues." *International Journal of Methods in Psychiatric Research* 17 (2008): 55-61
- Sanchez- Santed F., De Bruin J.P., Heinsbroek R.P., Verwer R.W. (1997): Spatial delayed alternation of rats in a T-maze: Effects of neurotoxic lesions of the medial prefrontal cortex and of T- maze rotations. *Behavioural Brain Research* 84: 73-79.
- Sands J.R., Harrow M. (1994): Depression during the longitudinal course of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 25(1): 157-217.
- Sanders, A. R., Rusu I., Duan J., Vander Molen J.E., Hou C., Schwab S.G., Wildenauer D.B., Martinez M., Gejman P.V. "Haplotypic association spanning the 22q11.21 genes COMT and ARVCF with schizophrenia." *Mol.Psychiatry* 10.4 (2005): 353-65.
- Sara, S. J. "Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering." *Learn.Mem.* 7.2 (2000): 73-84.
- Saus E, Brunet A, Armengol L, Alonso P, Crespo JM, Fernandez-Aranda F, Guitart M, Martín-Santos R, Menchón JM, Navinés R, Soria V, Torrens M, Urretavizcaya M, Vallès V, Gratacòs M, Estivill X (2010): Comprehensive copy number variant (CNV) analysis of neuronal pathways genes in psychiatric disorders identifies rare variants within patients. *J Psychiatr Res* 44(14): 971-978
- Sawa, A. and S. H. Snyder. "Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease." *Science* 296.5568 (2002): 692-95.
- Sawaguchi, T. and P. S. Goldman-Rakic. "D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory." *Science* 251.4996 (1991): 947-50.

- Sawaguchi, T. and P. S. Goldman-Rakic. "The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task." *J.Neurophysiol.* 71.2 (1994): 515-28.
- Saykin, A. J., Gur R.C., Gur R.E., Mozley P.D., Mozley L.H., Resnick S.M., Kester D.B., Stafiniak P. "Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning." *Arch.Gen.Psychiatry* 48.7 (1991): 618-24.
- Schafe G.E., Nadel N.V., Sullivan G.M., Harris A., LeDoux J.E. (1999): Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA and MAP kinase. *Learning and Memory* 6(2): 97-110.
- Schaid, D.J., Rowland, C.M., Tines, D.E., Jacobson, R.M.und Poland, G.A. (2002) Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous. *American Journal of Human Genetics*, **70**, 425-434.
- Schenkel LS, Silverstein SM. "Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioural domains." *Genetic, Social and General Psychology Monogr.* 130 (2004):241-270.
- Schieber, M. H. and L. S. Hibbard. "How somatotopic is the motor cortex hand area?" *Science* 261.5120 (1993): 489-92.
- Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. „Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci.“ *Nat. Genet.* 43 [10] (2011): 969-76.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511(7510), 421-427.
- Schneider, K. (1957) Primäre und sekundäre Symptome bei Schizophrenie. *Fortschritt für Neurologie und Psychiatrie*, 25, 487-490.
- Schmidt-Kastner, R. et al. "Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia." *Schizophr.Res.* 84.2-3 (2006): 253-71.
- Schmidt SJ, Mueller DR, Roder V. 2011. Social cognition as a mediator variable between neurocognition and functional outcome in schizophrenia: empirical review and new results by structural equation modeling. *Schizophr. Bull.* 37:S41–S54.
- Schmitt A, Rujescu D, Gawlik M, Hasan A, Hashimoto K, Iceta S, Jarema M, Kambeitz J, Kasper S, Keeser D, Kornhuber J, Koutsouleris N, Lanzenberger R, Malchow B, Saoud M, Spies M, Stöber G, Thibaut F, Riederer P, Falkai P; WFSBP Task Force on Biological Markers. „Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: Cognition, neuroimaging and genetics“. *World J Biol Psychiatry*. 2016 Sep;17(6):406-28.

- Schulz, S., Siemer H., Krug M., Höllt V. "Direct evidence for biphasic cAMP responsive element-binding protein phosphorylation during long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo." *J.Neurosci.* 19.13 (1999): 5683-92.
- Schultze-Lutter F (2009) Subjective Symptoms of Schizophrenia in Research and the Clinic: The Basic Symptom Concept. *Schizophr Bull.* 35(1):5-8.
- Schwab, S. G., Hoefgen B., Hanses C., Hassenbach M.B., Albus M., Lerer B., Trixler M., Maier W., Wildenauer D.B. "Further evidence for association of variants in the AKT1 gene with schizophrenia in a sample of European sib-pair families." *Biol.Psychiatry* 58.6 (2005): 446-50.
- Schwartz, B. L., R. B. Rosse, and S. I. Deutsch. "Toward a neuropsychology of memory in schizophrenia." *Psychopharmacol.Bull.* 28.4 (1992): 341-51.
- Schwarz R. "On the diagnosis of schizophrenia." *Fortschr Neurol Psychiatr Grenzgeb.* 48 (1980): 67-72.
- Sebat J, Levy DL, McCarthy SE (2009): Rare structural variants in schizophrenia: one disorder, multiple mutations; one mutation, multiple disorders. *Trends Genet* 25(12): 528-535.
- Segal, R. A. "Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations." *Annu.Rev.Neurosci.* 26 (2003): 299-330.
- Sei, Y., Ren-Patterson R., Li Z., Tunbridge E.M., Egan M.F., Kolachana B.S., Weinberger D.R. "Neuregulin1-induced cell migration is impaired in schizophrenia: association with neuregulin1 and catechol-o-methyltransferase gene polymorphisms." *Mol.Psychiatry* 12.10 (2007): 946-57.
- Selemon, L. D., G. Rajkowska, and P. S. Goldman-Rakic. "Abnormally high neuronal density in the schizophrenic cortex. A morphometric analysis of prefrontal area 9 and occipital area 17." *Arch.Gen.Psychiatry* 52.10 (1995): 805-18.
- Sewell, R. A., et al. (2010). Behavioral, cognitive and psychophysiological effects of cannabinoids: relevance to psychosis and schizophrenia. [Article]. *Revista Brasileira De Psiquiatria*, 32, S15-S30.
- Shallice T., Warrington E.K. (1970): Independent functioning of verbal memory stores, a neuropsychological study. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* 22: 261-273.
- Shaywitz, A. J. and M. E. Greenberg. "CREB: a stimulus-induced transcription factor activated by a diverse array of extracellular signals." *Annu.Rev.Biochem.* 68 (1999): 821-61.
- Shi J, Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, Dudbridge F, Holmans PA, Whittemore AS, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Crowe RR, Oksenberg JR, Mirel DB, Kendler KS, Freedman R, Gejman PV. "Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia." *Nature* 460(7256) (2009): 753-7.

- Shi J, Li Z, Wang T, Li T, Shen J, Zhang F, Chen J, Zhou G, Ji W, Li B, Xu Y, Liu D, Wang P, Yang P, Liu B, Sun W, Wan C, Qin S, He G, Steinberg S, Cichon S, Werge T, Sigurdsson E, Tosato S, Palotie A, Nöthen MM, Rietschel M, Ophoff RA, Collier DA, Rujescu D, Clair DS, Stefansson H, Stefansson K, Ji J, Wang Q, Li W, Zheng L, Zhang H, Feng G, He L (2011): Common variants on 8p12 and 1q24.2 confer risk of schizophrenia. *Nat Genet* 43(12): 1224-1227
- Shifman, S., Johannesson M., Bronstein M., Chen S.X., Collier D.A., Craddock N.J., Kendler K.S., Li T., O'Donovan M., O'Neill F.A., Owen M.J., Walsh D., Weinberger D.R., Sun C., Flint J., Darvasi A. "Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women." *PLoS.Genet.* 4.2 (2008): e28.
- Silva, A. J., Kogan J.H., Frankland P.W., Kida S. "CREB and memory." *Annu.Rev.Neurosci.* 21 (1998): 127-48.
- Snitz, B. E., A. W. Macdonald, III, and C. S. Carter. "Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes." *Schizophr.Bull.* 32.1 (2006): 179-94.
- Spitzer, M. "[Neuronal networks and psychopathology]." *Nervenarzt* 68.1 (1997): 21-37.
- Spitzer M. (2002): Lernen: Gehirnforschung und die Schule des Lebens. *Spektrum, Akademischer Verlag (Heidelberg, Berlin)*.
- Spitzer M (Hrsg.) (2006): Forum Neuroscience Schizophrenie. Thieme Verlag, Stuttgart
- Squire, L. R. "The organization and neural substrates of human memory." *Int.J.Neurol.* 21-22 (1987): 218-22.
- Squire L.R. (1993): The hippocampus and spatial memory. *Trends in Neurosciences* 16: 56-57.
- Squire L.R., Knowlton B., Musen G. (1993): The structure and organization of memory. *Annual Review of Psychology* 44: 453-495.
- Squire L.R. (1994): Memory and forgetting: Long- term and gradual changes in memory storage. *International Review of Neurobiology* 37: 243-269.
- Stanciu, M., J. Radulovic, and J. Spiess. "Phosphorylated cAMP response element binding protein in the mouse brain after fear conditioning: relationship to Fos production." *Brain Res.Mol.Brain Res.* 94.1-2 (2001): 15-24.

- Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OP, Mors O, Mortensen PB, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Rasmussen HB, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Magnusdottir BB, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher JR, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson TE, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemenev LA; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G et al. "Common variants conferring risk of schizophrenia." *Nature* 460(7256) (2009) : 744-7.
- Stefansson, H., Rujescu D., Cichon S., Pietiläinen O.P., Ingason A., Steinberg S., Fossdal R., Sigurdsson E., Sigmundsson T., Buizer-Voskamp J.E., Hansen T., Jakobsen K.D., Muglia P., Francks C., Matthews P.M., Gylfason A., Halldorsson B.V., Gudbjartsson D., Thorgeirsson T.E., Sigurdsson A., Jonasdottir A., Jonasdottir A., Bjornsson A., Mattiasdottir S., Blondal T., Haraldsson M., Magnusdottir B.B., Giegling I., Möller H.J., Hartmann A., Shianna K.V., Ge D., Need AC., Crombie C., Fraser G., Walker N., Lonnqvist J., Suvisaari J., Tuulio-Henriksson A., Paunio T., Touloupoulou T., Bramon E., Di Forti M., Murray R., Ruggeri M., Vassos E., Tosato S., Walshe M., Li T., Vasilescu C., Mühleisen T.W., Wang A.G., Ullum H., Djurovic S., Melle I., Olesen J., Kiemenev L.A., Franke B; GROUP, Sabatti C., Freimer N.B., Gulcher J.R., Thorsteinsdottir U., Kong A., Andreassen O.A., Ophoff R.A., Georgi A., Rietschel M., Werge T., Petursson H., Goldstein D.B., Nöthen M.M., Peltonen L., Collier D.A., St Clair D., Stefansson K. "Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia." *Nature* 455.7210 (2008): 232-36.
- Stefansson, H., Sarginson J., Kong A., Yates P., Steinthorsdottir V., Gudfinnsson E., Gunnarsdottir S., Walker N., Petursson H., Crombie C., Ingason A., Gulcher J.R., Stefansson K., St Clair D. "Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population." *Am.J.Hum.Genet.* 72.1 (2003): 83-87.
- Stefansson, H. et al. "Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia." *Am.J.Hum.Genet.* 71.4 (2002): 877-92.
- Steffan, J. S., Kazantsev A., Spasic-Boskovic O., Greenwald M., Zhu Y.Z., Gohler H., Wanker E.E., Bates G.P., Housman D.E., Thompson L.M. "The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription." *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 97.12 (2000): 6763-68.
- Stephan, K. E., T. Baldeweg, and K. J. Friston. "Synaptic plasticity and dysconnection in schizophrenia." *Biol.Psychiatry* 59.10 (2006): 929-39.
- Stevens, B. and R. D. Fields. "Response of Schwann cells to action potentials in development." *Science* 287.5461 (2000): 2267-71.

- Straub, R. E., Jiang Y., MacLean C.J., Ma Y., Webb B.T., Myakishev M.V., Harris-Kerr C., Wormley B., Sadek H., Kadambi B., Cesare A.J., Gibberman A., Wang X., O'Neill F.A., Walsh D., Kendler K.S. "Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia." *Am.J.Hum.Genet.* 71.2 (2002): 337-48.
- Sullivan, P. F., K. S. Kendler, and M. C. Neale. "Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies." *Arch.Gen.Psychiatry* 60.12 (2003): 1187-92.
- Sullivan, P. F., Lin D., Tzeng J.Y., van den Oord E., Perkins D., Stroup T.S., Wagner M., Lee S., Wright F.A., Zou F., Liu W., Downing A.M, Lieberman J., Close S.L."Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1." *Mol.Psychiatry* 13.6 (2008): 570-84.
- Svenningsson, P., A. C. Nairn, and P. Greengard. "DARPP-32 mediates the actions of multiple drugs of abuse." *AAPS.J.* 7.2 (2005): E353-E360.
- Svenningsson, P., Tzavara E.T., Carruthers R., Rachleff I., Wattler S., Nehls M., McKinzie D.L., Fienberg A.A., Nomikos G.G., Greengard P. "Diverse psychotomimetics act through a common signaling pathway." *Science* 302.5649 (2003): 1412-15.
- Svensson, E., et al. (2013). Schizophrenia susceptibility and age of diagnosis — A frailty approach. *Schizophrenia Research*, 147(1), 140-146.
- Swan, G. E. and D. Carmelli. "Evidence for genetic mediation of executive control: a study of aging male twins." *J.Gerontol.B Psychol.Sci.Soc.Sci.* 57.2 (2002): 133-43.
- Szeszko, P. R., Lipsky R., Mentschel C., Robinson D., Gunduz-Bruce H., Sevy S., Ashtari M., Napolitano B., Bilder R.M., Kane J.M., Goldman D., Malhotra A.K. "Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and volume of the hippocampal formation." *Mol.Psychiatry* 10.7 (2005): 631-36.
- Talkowski, M. E., Seltman H., Bassett A.S., Brzustowicz L.M., Chen X., Chowdari K.V., Collier D.A., Cordeiro Q., Corvin A.P., Deshpande S.N., Egan M.F., Gill M., Kendler K.S., Kirov G., Heston L.L., Levitt P., Lewis D.A., Li T., Mirnics K., Morris D.W., Norton N., O'Donovan M.C., Owen M.J., Richard C., Semwal P., Sobell J.L., St Clair D., Straub R.E., Thelma B.K., Vallada H., Weinberger D.R., Williams N.M., Wood J., Zhang F., Devlin B., Nimgaonkar V.L. "Evaluation of a susceptibility gene for schizophrenia: genotype based meta-analysis of RGS4 polymorphisms from thirteen independent samples." *Biol.Psychiatry* 60.2 (2006): 152-62.
- Tamlyn, D., McKenna P.J., Mortimer A.M., Lund C.E., Hammond S., Baddeley A.D. "Memory impairment in schizophrenia: its extent, affiliations and neuropsychological character." *Psychol.Med.* 22.1 (1992): 101-15.

- Tan, H. Y., Choo W.C., Fones C.S., Chee M.W. "fMRI study of maintenance and manipulation processes within working memory in first-episode schizophrenia." *Am.J.Psychiatry* 162.10 (2005): 1849-58.
- Tan, Y., Rouse J., Zhang A., Ciarati S., Cohen P., Comb M.J. "FGF and stress regulate CREB and ATF-1 via a pathway involving p38 MAP kinase and MAPKAP kinase-2." *EMBO J.* 15.17 (1996): 4629-42.
- Tandon, R., Keshavan M. S., Nasrallah H. A. "Schizophrenia, „Just the Facts“: What we know in 2008 Part 1: Overview." *Schizophrenia Research* 100 (2008): 4-19.
- Tandon, R., Keshavan M. S., Nasrallah H. A. "Schizophrenia, „Just the Facts“ What we know in 2008. Part 2. Epidemiology and etiology." *Schizophrenia Research* 102 (2008): 1-18.
- Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. "Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization." *Schizophrenia research* 110 (2009):1–23.
- Tang B, Thornton-Wells T, Askland KD (2011): Comparative linkage meta-analysis reveals regionally-distinct, disparate genetic architectures: application to bipolar disorder and schizophrenia. *PLoS One* 6(4): e19073
- Tardito, D., Perez J., Tiraboschi E., Musazzi L., Racagni G., Popoli M. "Signaling pathways regulating gene expression, neuroplasticity, and neurotrophic mechanisms in the action of antidepressants: a critical overview." *Pharmacol.Rev.* 58.1 (2006): 115-34.
- Taubenfeld, S. M., Wiig K.A., Monti B., Dolan B., Pollonini G., Alberini C.M. "Fornix-dependent induction of hippocampal CCAAT enhancer-binding protein [beta] and [delta] Co-localizes with phosphorylated cAMP response element-binding protein and accompanies long-term memory consolidation." *J.Neurosci.* 21.1 (2001): 84-91.
- Taylor, A. K., Klisak I., Mohandas T., Sparkes R.S., Li C., Gaynor R., Lusk A.J."Assignment of the human gene for CREB1 to chromosome 2q32.3-q34." *Genomics* 7.3 (1990): 416-21.
- Thome, J., Sakai N., Shin K., Steffen C., Zhang Y.J., Impey S., Storm D., Duman R.S. "cAMP response element-mediated gene transcription is upregulated by chronic antidepressant treatment." *J.Neurosci.* 20.11 (2000): 4030-36.
- Thompson R.F. (1988): The neural basis of basic associative learning of discrete behavioral responses. *Trends in Neurosciences* 11: 152-155.
- Thompson, P. M., Cannon T.D., Narr K.L., van Erp T., Poutanen V.P., Huttunen M., Lönngqvist J., Standertskjöld-Nordenstam C.G., Kaprio J., Khaledy M., Dail R., Zoumalan C.I., Toga A.W. "Genetic influences on brain structure." *Nat.Neurosci.* 4.12 (2001): 1253-58.
- Thune, J. J., H. B. Uylings, and B. Pakkenberg. "No deficit in total number of neurons in the prefrontal cortex in schizophrenics." *J.Psychiatr.Res.* 35.1 (2001): 15-21.

- Torrey, E. F. (2002). Studies of individuals with schizophrenia never treated with antipsychotic medications: a review. *Schizophr Res*, 58(2-3), 101-115.
- Trivier, E., De Cesare D., Jacquot S., Pannetier S., Zackai E., Young I., Mandel J.L., Sassone-Corsi P., Hanauer A. "Mutations in the kinase Rsk-2 associated with Coffin-Lowry syndrome." *Nature* 384.6609 (1996): 567-70.
- Tsai, C. T., Lai L.P., Lin J.L., Chiang F.T., Hwang J.J., Ritchie M.D., Moore J.H., Hsu K.L., Tseng C.D., Liao C.S., Tseng Y.Z. "Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation." *Circulation* 109.13 (2004): 1640-46.
- Tsuang, M. "Schizophrenia: genes and environment." *Biol.Psychiatry* 47.3 (2000): 210-20.
- Tsuang, M. T. "Genetics, epidemiology, and the search for causes of schizophrenia." *Am.J.Psychiatry* 151.1 (1994): 3-6.
- Tsuang, M. T. and S. V. Faraone. "The genetic epidemiology of schizophrenia." *Compr.Ther.* 20.2 (1994): 130-35.
- Tsuang, M. T., W. S. Stone, and S. V. Faraone. "Schizophrenia: a review of genetic studies." *Harv.Rev.Psychiatry* 7.4 (1999): 185-207.
- Tsuang, M. T., W. S. Stone, and S. V. Faraone. "Genes, environment and schizophrenia." *Br.J.Psychiatry Suppl* 40 (2001): s18-s24.
- Tulving E. (editor) (1995): Organization of memory, quo vadis? *The cognitive neurosciences*. Editor: Gazzaniga M.S.; Cambridge (MA), MIT Press, pp.839-850.
- Tulving E., Craik F.I.M. (2000): The Oxford handbook of memory. *Oxford University Press*.
- Van Os, J., Marcelis M., Sham P., Jones P., Gilvarry K., Murray R. "Psychopathological syndromes and familial morbid risk of psychosis." *Br.J.Psychiatry* 170 (1997): 241-46.
- Van Os, J., Kapur S. "Schizophrenia." *The Lancet* 374 (2009): 635-645.
- Vawter MP, Mamdani F, Macciardi F. 2011. An integrative functional genomics approach for discovering biomarkers in schizophrenia. *Brief Funct Genomics*. 10:387–399.
- Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. 2003. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122:647–657.
- Veling, W., Susser, E., van Os, J., Mackenbach, J.P., Selten, J.P. and Hoek, H.W. "Ethnic density of neighborhoods and incidence of psychotic disorders among immigrants." *Am J Psychiatry*, 165, (2008): 66-73.



- Verdoux H, Geddes JR, Takei N, Lawrie SM, Bovet P, Eagles JM, Heun R, McCreadie RG, McNeil TF, O'Callaghan E, Stoher G, Willinger MU, Wright P, and Murray RM (1997) Obstetric complications and age at onset in schizophrenia: an international collaborative meta-analysis of individual patient data. *Am.J.Psychiatry* 154 (9):1220-1227.
- Viola, H., Furman M., Izquierdo L.A., Alonso M., Barros D.M., de Souza M.M., Izquierdo I., Medina J.H. "Phosphorylated cAMP response element-binding protein as a molecular marker of memory processing in rat hippocampus: effect of novelty." *J.Neurosci.* 20.23 (2000): RC112.
- Walker, W. H., C. Girardet, and J. F. Habener. "Alternative exon splicing controls a translational switch from activator to repressor isoforms of transcription factor CREB during spermatogenesis." *J.Biol.Chem.* 271.33 (1996): 20145-1050.
- Wallace, T. L., Stellitano K.E., Neve R.L., Duman R.S. "Effects of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein overexpression in the basolateral amygdala on behavioral models of depression and anxiety." *Biol.Psychiatry* 56.3 (2004): 151-60.
- Walsh, T., McClellan J.M., McCarthy S.E., Addington A.M., Pierce S.B., Cooper G.M., Nord A.S., Kusenda M., Malhotra D., Bhandari A., Stray S.M, Rippey C.F., Roccanova P., Makarov V., Lakshmi B., Findling R.L., Sikich L., Stromberg T., Merriman B., Gogtay N., Butler P., Eckstrand K., Noory L., Gochman P., Long R., Chen Z., Davis S., Baker C., Eichler E.E., Meltzer P.S., Nelson S.F., Singleton A.B., Lee M.K., Rapoport J.L., King M.C., Sebat J. "Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia." *Science* 320.5875 (2008): 539-43.
- Walters, C. L. and J. A. Blendy. "Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse." *J.Neurosci.* 21.23 (2001): 9438-44.
- Walton, M., Connor B., Lawlor P., Young D., Sirimanne E., Gluckman P., Cole G., Dragunow M.. "Neuronal death and survival in two models of hypoxic-ischemic brain damage." *Brain Res.Brain Res.Rev.* 29.2-3 (1999): 137-68.
- Walton, M., Woodgate A.M., Muravlev A., Xu R., During M.J., Dragunow M. "CREB phosphorylation promotes nerve cell survival." *J.Neurochem.* 73.5 (1999): 1836-42.
- Weeber, E. J., Beffert U., Jones C., Christian J.M., Forster E., Sweatt J.D., Herz J. "Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning." *J.Biol.Chem.* 277.42 (2002): 39944-52.
- Wei J, Graziane NM, Wang H, et al. Regulation of NMDA Receptors by Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1). *Biological psychiatry.* 2014;75(5):414-424. doi:10.1016/j.biopsych.2013.06.009.

- Weickert, C. S., Hyde T.M., Lipska B.K., Herman M.M., Weinberger D.R., Kleinman J.E. "Reduced brain-derived neurotrophic factor in prefrontal cortex of patients with schizophrenia." *Mol.Psychiatry* 8.6 (2003): 592-610.
- Weinberger, D. R. "Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia." *Arch.Gen.Psychiatry* 44.7 (1987): 660-69.
- Weinberger, D. R. "Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia." *Biol.Psychiatry* 45.4 (1999): 395-402.
- Weiskrantz L. (1990): Problems of learning and memory, one or multiple memory systems? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Science* 329: 99-108.
- White, E. L. "Specificity of cortical synaptic connectivity: emphasis on perspectives gained from quantitative electron microscopy." *J.Neurocytol.* 31.3-5 (2002): 195-202.
- White, F. J. "Synaptic regulation of mesocorticolimbic dopamine neurons." *Annu.Rev. Neurosci.* 19 (1996): 405-36.
- Wiggin, G. R., Soloaga A., Foster J.M., Murray-Tait V., Cohen P., Arthur J.S. "MSK1 and MSK2 are required for the mitogen- and stress-induced phosphorylation of CREB and ATF1 in fibroblasts." *Mol.Cell Biol.* 22.8 (2002): 2871-81.
- Wilkie, M. J., Smith D., Reid I.C., Day R.K., Matthews K., Wolf C.R., Blackwood D., Smith G. "A splice site polymorphism in the G-protein beta subunit influences antidepressant efficacy in depression." *Pharmacogenet.Genomics* 17.3 (2007): 207-15.
- Williams, H. J., M. J. Owen, and M. C. O'Donovan. "Is COMT a susceptibility gene for schizophrenia?" *Schizophr.Bull.* 33.3 (2007): 635-41.
- Williams, N. M., Williams N.M., Preece A., Spurlock G., Norton N., Williams H.J., McCreadie R.G., Buckland P., Sharkey V., Chowdari K.V., Zammit S., Nimgaonkar V., Kirov G., Owen M.J., O'Donovan M.C. "Support for RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia." *Biol.Psychiatry* 55.2 (2004): 192-95.
- Williams NM, O'Donovan MC, Owen MJ (2005): Is the dysbindin gene (DTNBP1) a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophr Bull* 31(4): 800-805
- Wittchen, H.-U.; Saß, H.; Zaudig, M. (1996). Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychiatrie.
- Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T (1997) SKID-I und SKID-II Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, 1. Auflage. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe.
- Wray NR, Gottesman II. 2012. Using summary data from the danish national registers to estimate heritabilities for schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Front Genet.* 3:118.

- Xu, B., Roos J.L., Levy S., van Rensburg E.J., Gogos J.A., Karayiorgou M. "Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia." *Nat.Genet.* 40.7 (2008): 880-85.
- Xu B, Roos JL, Dexheimer P, et al. Exome sequencing supports a *de novo* mutational paradigm for schizophrenia. *Nature genetics*. 2011;43(9):864-868. doi:10.1038/ng.902.
- Yamamoto, M., Götz M.E., Ozawa H., Luckhaus C., Saito T., Rösler M., Riederer P."Hippocampal level of neural specific adenylyl cyclase type I is decreased in Alzheimer's disease." *Biochim.Biophys.Acta* 1535.1 (2000): 60-68.
- Yamamoto-Sasaki, M., Ozawa H., Saito T., Rösler M., Riederer P."Impaired phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein in the hippocampus of dementia of the Alzheimer type." *Brain Res.* 824.2 (1999): 300-03.
- Yue WH, Wang HF, Sun LD, Tang FL, Liu ZH, Zhang HX, Li WQ, Zhang YL, Zhang Y, Ma CC, Du B, Wang LF, Ren YQ, Yang YF, Hu XF, Wang Y, Deng W, Tan LW, Tan YL, Chen Q, Xu GM, Yang GG, Zuo XV, Yan H, Ruan YY, Lu TL, Han X, Ma XH, Wang Y, Cai LW, Jin C, Zhang HY, Yan Yan J, Mi WF, Yin XY, Ma WB, Liu Q, Kang L, Sun W, Pan CY, Shuang M, Yang FD, Wang CY, Yang JY, Li KQ, Ma X, Li LJ, Liu X, Li QZ, Huang X, Lv LX, Li T, Zhao FP, Huang W, Zhang XJ, Zhang D (2011): Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for schizophrenia in Han Chinese at 11p11.2. *Nat Genet* 43(12): 1228-1231.
- Zornberg GL, Buka SL, Tsuang MT "Hypoxic-ischemia-related fetal/neonatal complications and risk of schizophrenia and other nonaffective psychoses: a 19-year longitudinal study". *Am J Psychiatry* 157 (2000):196-202
- Zubenko, G. S., Hughes H.B. 3rd., Stiffler J.S., Brechbiel A., Zubenko W.N., Maher B.S., Marazita M.L. "Sequence variations in CREB1 cosegregate with depressive disorders in women." *Mol.Psychiatry* 8.6 (2003): 611-18.
- Zubin, J. and B. Spring. "Vulnerability--a new view of schizophrenia." *J.Abnorm.Psychol.* 86.2 (1977): 103-26.
- Zuo, Y., Lin A., Chang P., Gan W.B. "Development of long-term dendritic spine stability in diverse regions of cerebral cortex." *Neuron* 46.2 (2005): 181-89.



## Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. Hans-Jürgen Möller, dem ehemaligen Leiter und Herrn Prof. Dr. Peter Falkai danke ich dafür, daß ich die vorliegende Arbeit in der von ihm geleiteten Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München absolvieren konnte.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu und Frau PD Dr. Ina Giegling für die Betreuung der Dissertation in ihrer Forschungsgruppe sowie für die Vergabe des Themas und die unentbehrliche Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse. Sie waren zu jeder Zeit hilfsbereite und kompetente Ansprechpartner, die mein Interesse an dem faszinierenden Gebiet der molekularen Neurogenetik durch die umsichtige Auswahl des Themas dieser Arbeit und deren konstruktive Betreuung geweckt und vertieft haben.

Ausdrücklich möchte ich mich bei Frau Dr. Annette Hartmann für die kompetente und durchgehende Betreuung, während der schriftlichen Ausarbeitung und Korrektur und insgesamt für die vielen konstruktiven Anregungen ganz herzlich bedanken. Bei Frau Dr. Marion Friedl möchte ich mich ebenfalls für die Korrektur dieser Arbeit ganz herzlich bedanken.

Frau Dr. Heike Konnerth danke ich für ihre wertvolle Betreuung während der lehrreichen Monate der wissenschaftlichen Arbeit in der psychiatrischen Klinik. Diese Zeit hat mich persönlich sehr geprägt und in meinen Zielen bestärkt. Vielen Dank.

Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Helmut Lambrecht und Herrn Dr. Martin Huber für die orthographische und grammatikalische Durchsicht und bei meinen beiden Familien für die langjährige Unterstützung, insbesondere bei meiner Frau Alexandra Ortega und meiner Tochter Sophie Ortega, ohne deren Unterstützung diese Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Das CREB1-Gen in der Schizophrenie“ selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 10.03.2019

Ortega Castillo, Manuel Alejandro